

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktion: Prof. Dr. Julia Mayerle

**Regulation der antroduodenalen Motilität durch GLP-1 bei Gesunden
und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM)**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

Ayman Derani

aus

Damaskus

2018

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jörg Schirra

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Jochen Seißler

Prof. Dr. Christian Rust

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Mathias Nicolaus

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2018

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt und motiviert haben.

Zuerst gebührt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. med. Jörg Schirra, der meine Doktorarbeit von Anfang an betreut und begutachtet hat. Sowohl für die hilfreichen Anregungen und die konstruktive Kritik bei der Erstellung als auch für seine Geduld und Unterstützung bei der Korrektur dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken.

Ein spezieller Dank für die Überlassung der Arbeit gilt dem ehemaligen Direktor der Medizinischen Klinik II des Klinikums der Universität München - Großhadern - Herrn Prof. Dr. med. Burkhard Göke, in dessen Klinik diese Arbeit möglich wurde.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Rita Schinkmann und Frau Silke Knopp bedanken, die mir mit viel Geduld und Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Experimente immer zur Seite standen. Ich danke Dr. Mathias Nicolaus, der mir bei Schwierigkeiten während der Versuchsdurchführung jederzeit mit fachlichen Ratschlägen zur Verfügung stand.

Meinen lieben Eltern danke ich herzlich für das grenzenlose Vertrauen und für ihre moralische und finanzielle Unterstützung.

Desweiteren richte ich einen besonderen Dank an meine Schwiegermutter Frau Ina Semisch-Al-Moneyyer, die meine Arbeit regelmässig gelesen und sprachlich begleitet hat.

Abschließend möchte ich mich herzlich bei meiner Lieben Ehefrau Nabila Al-Moneyyer bedanken, die mir ein starker emotionaler Rückhalt und Motivator über die Dauer meines gesamten Dissertationsstudium war und stets ein offenes Ohr für meine Sorgen hatte.

Abkürzungen

A1-A4	Antrale Ableitungen 1-4
AD -Motilität	antroduodenale Motilität
ANOVA	analysis of variance
AUC	Area under the curve
BMI	Body Mass Index
Bw	body weight
CRU	Clinical Research Unit
D1-D4	Duodenale Ableitungen 1-4
DPP-4	Dipeptidylpeptidase 4
EDTA	Ethylendiamin-tetraacetat
DM	Diabetes mellitus
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMA	European Medicines Agency
ILMA	Immuno-Luminiszenz-Assay
i.v.	intravenös
GIP	Glukose-dependent insulinotropic Polypeptide
GLP-1	Glukagon-like Peptide 1
GLP-2	Glukagon-like Peptide 2
KA	Kontraktionsamplitude
KF	Kontraktionsfrequenz
HbA1c	Glykohämoglobin
HS	Healthy subject
HIV	Human immunodeficiency virus
MI	Motilitätsindex
MW	Mittelwert
n	Nummer
NaCl	Natriumchlorid
OGTT	Oraler Glucosetoleranztest
PD-A	Potentialdifferenz Antrum
PD-D	Potentialdifferenz Duodenum
ROI	Radioimmunoassay
SA	Sleeve-Ableitung Antrum

Sal	Saline (Kochsalzlösung)
SD	Sleeve-Ableitung Duodenum
SEM	Standardabweichung des Mittelwertes
T1DM	Diabetes mellitus Typ 1
T2DM	Diabetes mellitus Typ 2
TMPD	transmukösalen Potentialdifferenz

Inhalt

Danksagung	3
Abkürzungen.....	4
1 Einleitung.....	8
1.1. Glucosedependent Insulinotropic Polypeptid (GIP)	10
1.2. Glucagon-Like Peptid 1 (GLP-1).....	10
1.2.1 GLP-1 Wirkungen	11
1.2.2 Physiologische GLP-1-Effekte auf den Glucosestoffwechsel bei Gesunden.....	12
1.2.3 GLP-1-Effekte auf den Glucosestoffwechsel beim Patienten mit T2DM.....	13
1.2.4 GLP-1 als Ansatz für die Therapie des Diabetes Mellitus	14
1.3. Wirkung der Inkretinhormone auf die Motilität.....	14
1.4. Magenmotilität bei Diabetes mellitus Typ II und die Rolle von GLP 1	15
1.5. Exendin(9-39) als Rezeptorantagonist für GLP-1.....	17
2 Ziel der Arbeit.....	19
3 Material und Methoden	21
3.1. Genehmigungsverfahren und Einverständniserklärung.....	21
3.2 Probanden.....	21
3.2.1 Einschlusskriterien gesunde Probanden (Healthy subject: HS)	23
3.2.2 Ausschlusskriterien gesunde Probanden (Healthy subject: HS)	23
3.2.3 Einschlusskriterien Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM)	24
3.2.4 Ausschlusskriterien Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM)	24
3.3 Die Nahrung	25
3.4 Glucoseinfusion: Isoglykämisch-Hyperglykämischen Clamp	26
3.5 Blutentnahmen	26
3.6 Exendin(9-39) amid	27
3.7 Registrierung der antroduodenalen Motilität	29

3.8 Studiendesign.....	33
3.8.1 Ablauf eines Experimenttages	35
3.9 Auswertung und Analyse	39
3.9.1 Auswertung der antroduodenalen Motilität	39
3.9.2 Analyse der Plasmaglycose und der Inkretinhormone (GLP-1 und GIP):	44
3.10 Statistik.....	45
4 Ergebnisse	46
4.1. Plasmaglycosekonzentration und der hyperglykämische Clamp	47
4.2.1 GLP-1	50
4.2.2 GIP	54
4.3. Antroduodenale Motilität	57
4.3.1 Antrale Motilität	57
4.3.1.1 Effekt der duodenalen Mahlzeit auf die antrale Motilität	61
4.3.1.2 Effekt von Exendin(9-39) auf die antrale Motilität.....	61
4.3.1.3 Fazit der antralen Motilität.....	63
4.3.2 Duodenale Motilität.....	67
4.3.2.1 Effekt der duodenale Mahlzeit auf die duodenale Motilität.....	71
4.3.2.2 Effekt von Exendin auf die duodenale Motilität.....	71
4.3.2.3 Fazit der duodenalen Motilität	73
5. Diskussion	77
5.1. Postprandiale Sekretion von Inkretinhormonen bei Gesunden und Diabetikern	77
5.2. Die antroduodenale Motilität bei Diabetikern und der Effekt von GLP-1.....	79
6. Zusammenfassung.....	87
7. Literaturverzeichnis	90

1 Einleitung

Die Regulation der postprandialen Glucosehomöostase ist komplex und wird durch mehrere Systeme moduliert. Die Interaktion zwischen der Funktion der pankreatischen Inselzellen (Insulin und Glucagon) und der hepatischen und peripheren Insulinsensitivität ist vielleicht der dominante Faktor für diese Regulation (1;2), allerdings wird die Variation der postprandialen Glucosehomöostase dadurch nur zu etwa 50% erklärt.(3;4). Eine große Rolle für die Regulation der postprandialen Glucosehomöostase spielt auch der Magendarmtrakt, einerseits durch die Magenentleerung (5;6) mit Beeinflussung des Glucoseflusses vom Darm in den Kreislauf (7), andererseits durch die Inkretinhormone (GLP-1 und GIP) mit deren Effekt auf die pankreatischen Inselzellen. (8;9)

Die Bedeutung der Magenentleerung für die postprandiale Glucosehomöostase ist groß. Der Unterschied in der Magenentleerung bedingt ca. 30-50% der Variation der postprandialen Plasmaglucosexkursion (6;10;11). Denn durch eine schnelle Magenentleerung kommt es zu einer schnellen Glucoseresorption im Dünndarm und folglich zu einem Anstieg der Plasmaglucose. Die Magenentleerung wird wiederum durch die Plasmaglucose als Feedbackmechanismus beeinflusst, um einer Hyperglykämie entgegenzuwirken.

Die Glucosehomöostase bei Diabetikern ist beeinträchtigt mit der Konsequenz einer hyperglykämischen Stoffwechsellage, die im Verlauf zu multiplen v.a. neurovasculären und nephrologischen Komplikationen führen kann. Die Hauptursache liegt in der Funktionsstörung der Insulin-bildenden pankreatischen B-Inselzellen und in der hepatischen und peripheren Insulinresistenz mit verminderter Glucoseaufnahme aus dem Blutkreislauf. Außerdem wurde bei Diabetikern ein verminderter Inkretineffekt festgestellt (12), hier wurde eine gestörten GIP Funktion vermutet (13). Ebenfalls wird bei Diabetikern eine gestörte Magenentleerung diskutiert, die v.a. bei vermindertem Erstphaseninsulin zu der Entstehung der exzessiven unkontrollierten postprandialen Hyperglykämie beiträgt (11).

GLP-1 ist ein Darmhormon, das postprandial freigesetzt wird und die Glucosehomöostase durch mehrere Mechanismen beeinflusst: als Inkretinhormon stimuliert bzw. hemmt GLP-1 glucoseabhängig die Insulin- bzw. die Glucagonsekretion (9;14;15); als Enteroastron führt es zu einer Verzögerung der Magenentleerung und reguliert dadurch die Glucosehomöostase. (16;17)

Bei Diabetikern wurde eine verminderte Wirkung vom GLP-1 vermutet (18;19), allerdings blieben seine Wirkungen durch eine exogene Gabe erhalten (14), was für die diabetische Therapie von großem Interesse ist und was zur Entwicklung der GLP-1 Analoga geführt hat.

Die genaue Funktion vom GLP-1 ist noch nicht ganz geklärt. Die meisten klinischen Studien zur Erforschung der GLP-1 Wirkung wurden mit der exogenen Gabe von synthetischem GLP-1 durchgeführt. Erst nach der Entdeckung von Exendin 9-39 war es erstmals möglich, die endogene Wirkung von GLP-1 zu untersuchen. Somit erfolgten viele Studien, die die Wirkung des endogenen GLP-1 auf die Insulinsekretion, Magenentleerung und Darmmotilität bei Gesunden untersuchten. Bis jetzt wurden nur wenige Studien durchgeführt, die die Wirkung von endogenem GLP-1 als Inkretinhormon bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus untersuchten. Sie zeigten, dass trotz absolut vermindertem Inkretineffekt dieser wie auch bei Gesunden zu etwa 50% durch GLP-1 vermittelt ist. (20)

Vorliegende Studie ist die erste, die die Wirkung von endogenem GLP-1 als Enterogastron bei Diabetikern untersucht. Sie vergleicht unter identischen Hyperglykämiebedingungen die postprandiale antroduodenale Motilität bei Gesunden und Diabetikern und untersucht dabei Wirkung von endogenem GLP-1.

Da die antroduodenale Motilität als motorische Kraft die Magenentleerung und dadurch auch die Glucoseresorption beeinflusst,(21), sind diese Kenntnisse von einer relevanten Bedeutung für das Verständnis der diabetischen Glucosehomöostase und der antidiabetische Therapie mit GLP-1 Analoga und DPP-4 Inhibitoren.

Ebenfalls kann in dieser Studie festgestellt werden, ob ein Unterschied in der Funktion dieses antroduodenalen Motorkomplexes zwischen Gesunden und Diabetikern unter den gleichen Bedingungen besteht, was als mögliche Ursache zur gestörten Glucosehomöostase bei Diabetikern beitragen kann.

Bevor wir mit der Methodik der Studie beginnen, ist es von Bedeutung, einen kleinen Überblick über die Inkretinhormone und deren Wirkungen auf die Glucosehomöostase und Magenmotilität (insbesondere der antroduodenalen Motilität) zu geben.

1.1. Glucosedependent Insulinotropic Polypeptid (GIP)

GIP wird aus den K-Zellen im Duodenum und oberen Jejunum sezerniert. Seine Hauptwirkung besteht in der glucoseabhängigen Sekretion des Insulins, weshalb es Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide genannt wurde. Der Hauptreiz für die GIP-Sekretion ist Glucose und einige andere Mono- und Disaccharide sowie Triglyzeride. Nach einem ersten postprandialen Anstieg binnen ca. 15 Min erreicht der GIP- Plasmaspiegel sein Maximum nach 1-3 Stunden. Die Sekretion von GIP korreliert nicht mit der Magenentleerungsgeschwindigkeit, sondern GIP wird (submaximal) freigesetzt, solange der Magen entleert (22). GIP wird von der ubiquitären Amino-Dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4) inaktiviert. Die Elimination von intaktem GIP und seinen Spaltprodukten erfolgt mit einer HWZ von ca. 20 Min relativ langsam.

Die Hauptwirkung von GIP ist die glucoseabhängige Stimulierung der Insulinsekretion von Langerhansschen B- Zellen (8).

Im Gegensatz zur GLP-1 hat GIP keinen Einfluss auf die Magenmotilität (23).

1.2. Glucagon-Like Peptid 1 (GLP-1)

GLP-1 wird in den L-Zellen des Dünndarms und des Dickdarms synthetisiert. Die höchste Zelldichte liegt im Ileum und distalem Colon. Das Duodenum enthält praktisch keine L-Zellen und das Jejunum weist eine relativ niedrige Dichte an diesen Zellen auf (24). Interessant ist, dass es im proximalen Dünndarm Zellen gibt, die beide Inkretinhormone GLP-1 und GIP enthalten und vermutlich die beiden Hormone gleichzeitig freisetzen (25;26).

Der Hauptsekretionsreiz für GLP-1 ist Glucose, daneben können auch intraluminäre Aminosäuren, Lipide oder Mischkost die GLP-1-Freisetzung stimulieren (22;27). Die postprandiale Sekretion der GLP-1 aus den L-Zellen verläuft in zwei Phasen:

1. Schnelle Phase mit einem steilen Anstieg der GLP-1 in den ersten 20 Min. Diese Phase korreliert wahrscheinlich mit einer sehr frühen Magenentleerung, noch bevor diese durch intestinales feedback reguliert wird.
2. Plateauphase, die sowohl von der zugeführten Nahrungsmenge als auch von der Magenentleerung und der antroduodenalen Geschwindigkeit abhängt. So haben Schirra et al. gezeigt, dass eine Magenentleerungsgeschwindigkeit für Glucose unterhalb 1,4 kcal/min (ca. 350 mg /min), die ebenfalls die maximale Glucose-Resorptionskapazität des Duodenum für Glucose darstellt, zu keiner GLP-1-Freisetzung mehr führt, was einen Schwellenwert des duodenalen Einstroms von Glucose für die GLP-1-Ausschüttung zeigt (22).

Der basale Plasmaspiegel von GLP-1 beträgt 1,4-2,2 pmol/L. Dieser Wert steigt nach der Nahrungsaufnahme auf 20-30 pmol/L.(27)

Die Inaktivierung des GLP-1 erfolgt im Blutplasma hauptsächlich durch die Exoprotease Amino-Dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4) (28). GLP-1 ist außerdem ein Substrat für das membranständige Ektoenzym Neutrale Endopeptidase, die bevorzugt im C-terminalen Bereich hydrophobe Aminosäuren angreift und spaltet (29).

Ein möglicher weiterer Weg der GLP-1-Eliminierung ist die Ausscheidung über den Nieren. So wurden bei Patienten mit Niereninsuffizienz erhöhte GLP-1-Werte im Plasma festgestellt (30)

1.2.1 GLP-1 Wirkungen

Die Wirkungen von GLP-1 sind im Folgenden aufgelistet:

1. Stimulation der Insulinsekretion: Als ein Inkretinhormon stimuliert GLP-1 die B-Zellen des Pankreas Insulin freizusetzen. Diese Stimulierung ist glucoseabhängig und setzt eine Plasmaglukosekonzentration oberhalb 65mg/dl (4,3 mmol/l) voraus, so dass unterhalb dieser Grenze keine Wirkung nachweisbar ist (15). Das erklärt, dass GLP-1 allein keine Hypoglykämie verursachen kann. Die insulinotrope Wirkung von GLP-1 bleibt beim Diabetiker erhalten (14;20)
2. Hemmung der Glucagonsekretion durch direkte Wirkung von GLP-1 auf Subtypen der A-Zellen des Pankreas, die einen GLP-1-Rezeptor besitzen oder durch indirekte hemmende Wirkung von Insulin und Somatostatin auf die A-Zellen; ganz geklärt ist dies aber noch nicht. Diese Wirkung von GLP-1 an den A-Zellen ist ebenfalls von dem Plasmaglukosespiegel abhängig (15). Es wurde allerdings nachgewiesen, dass Glucagon beim Menschen im euglykämischen Bereich unter tonischer Hemmung von endogenem GLP-1 steht (15;17).
3. Hemmung der Magenentleerungsgeschwindigkeit: diese ist deutlich nachweisbar durch GLP-1-Konzentrationen im physiologischen Bereich und ist nicht von Völlegefühl, Übelkeit oder Erbrechen begleitet. Durch eine vierfache Erhöhung der Konzentration kommt es zu einer Magenatonie (31-34). Die genaue Wirkung von GLP 1 auf die Magenmotilität wird später ausführlich erklärt.

4. Regulation der Nahrungsaufnahme und subjektives Sättigungsgefühl: Zwei Mechanismen für diese Wirkung werden diskutiert:
 - a. GLP-1 bewirkt direkt über Rezeptoren im ZNS ein verstärktes Sättigungsgefühl und vermindert das subjektive Appetitgefühl; dies führt zu verminderter Nahrungs- und Energieaufnahme (35-37).
 - b. Die Verzögerung der Magenmotilität führt zu einem verstärkten Sättigungsgefühl (38), was die weitere Nahrungsaufnahme bremst, das ist aber nicht bewiesen. Diese Wirkung ist durch exogene Gabe ebenfalls bei Diabetiker erhalten. (39).
5. Regulation der B-Zellmasse (B-Zellneogenese, Differenzierung und Apoptose): GLP-1 aktiviert die B-Zellneogenese aus Stammzellen und Insel-Vorläuferzellen und die Differenzierung der B-Zellen aus Duktalenzellen im Pankreas und hemmt die Zellapoptose. Das führt zu erhöhter funktionellen B-Zellmasse (40). Diese Wirkung von GLP-1 konnte bislang bei gesunden und diabetischen Tieren in vitro und vivo nachgewiesen werden (40). Beim Menschen braucht es bessere Methoden zur Bestimmung der B-Zellmasse, um diese Wirkung von GLP-1 genauer zu untersuchen.
6. Steigerung auf Insulinsensitivität, die zur gesteigerten Aufnahme von Glucose in dem peripheren Gewebe führt und somit v.a. bei Diabetiker, die einen Insulinresistenz aufweisen zur Verbesserung der Glucosestoffwechsel beiträgt. Diese Wirkung ist aber noch nicht ausführlich aufgeklärt und derzeit umstritten.

1.2.2 Physiologische GLP-1-Effekte auf den Glucosestoffwechsel bei Gesunden

Die oben erläuterten Wirkungen von GLP-1 beschränken sich auf ein Zielorgan als eine eigenständige Einheit. In einem komplexen System wie dem menschlichen Organismus, wo mehrere Sub-Systeme gleichzeitig im Gange sind für den Erhalt seines Stoffwechsels, kann der gesamte Effekt von GLP-1 anders aussehen:

So führt GLP-1 einerseits - nüchtern und während Hyperglykämie appliziert - als ein wichtiges Inkretinhormon definitionsgemäß zu einer glucoseabhängigen Erhöhung des Insulinspiegels. Diese Experimente haben aber andererseits die hemmende Wirkung von GLP-1 auf die Magenmotilität nicht berücksichtigt. Denn postprandial kann es durch die verzögerte Magenentleerung zu einem verminderten Kalorienfluss ins Duodenum kommen, was einerseits

zu verminderter Glucoseresorption, andererseits zu einer reduzierten Sekretion anderer Inkretinhormonen (GIP) führt, was hemmend auf die Insulinsekretion wirkt (41).

Experimentelle Studien haben gezeigt, dass die GLP-1-hemmende Wirkung auf die Magenmotilität bei Normoglykämie überwiegen kann, so dass GLP-1 sogar zu einer Reduktion des postprandialen Insulinstiegs führen könnte (42;43).

Solche Wechselwirkungen könnten die Wirkung von GLP-1 als Inkretinhormon in Frage stellen (44).

1.2.3 GLP-1-Effekte auf den Glucosestoffwechsel beim Patienten mit T2DM

Wie schon erwähnt kann die Rolle von GLP-1 als Inkretinhormon in einer normalen euglykämischen Stoffwechsellage maskiert werden, weil die Drosselung der Magenmotilität die insulinotrope Wirkung überwiegt. Der Inkretineffekt dürfte dann hauptsächlich von GIP getragen werden. Dies ändert sich in einer hyperglykämischen Stoffwechsellage, wie sie bei Patienten mit T2DM häufig ist.

Ein Patient mit Diabetes mellitus zeichnet sich durch eine hyperglykämische Stoffwechsellage aus, die auf Grund mehrerer pathophysiologischer Probleme verursacht ist: die gestörte Insulinsekretion, eine Hyperglukagonämie, eine gestörte Insulinsensitivität der peripheren Zellen, die zur verminderten Glucoseaufnahme in den Geweben mit hoher Energieleistung führt, was regulatorisch zu einer gesteigerten Lipolyse und wiederum zur Insulinresistenz hinführt. Außerdem besteht - zumindest bei einem Teil der T2DM - eine gesteigerte Magenentleerung (45), dadurch beschleunigte Glucoseresorption, was wiederum die postprandiale Hyperglykämie verstärkt.

Zusätzlich wurde bei Patienten mit T2DM ein verminderter Inkretineffekt beschrieben (12). Neue Kenntnisse über der Wirkung des endogenen Inkretineffekt unter Verwendung des GLP-1-Antagonisten Exendin(9-39) zeigen aber einen noch vorhandenen relativen Inkretineffekt bei Diabetiker sowohl für GLP-1- als auch für einen Non- GLP-1-Anteil (wahrscheinlich GIP). Somit beruht der absolut verminderten Inkretineffekt wahrscheinlich auf einer generalisierten Defekt der Pankreaszellen und nicht auf einer mangelnden insulinotropen Wirkung der Inkretinhormone.(20;46).

Abgesehen von der Pathogenese des verminderten Inkretineffekt zeigte exogen zugeführtes GIP bei Patienten mit T2DM keine wesentliche Wirkung. Interessanterweise konnte aber die exogene Gabe von GLP-1 in pharmakologischer Dosierung das Defizit an dem Inkretineffekt

auszugleichen, was die Hoffnung auf GLP-1 als therapeutisches Mittel gegen T2DM geweckt hat (47). Im Gegensatz zu GIP scheint GLP-1 in der Lage, viele Probleme der T2DM zu lösen (23):

Es stimuliert die Insulinsekretion, hemmt die Glucagonsekretion und die Magenmotilität, in deren Folge weniger Glucose im Duodenum resorbiert wird, was aber beim Diabetiker im Vergleich zum Gesunden eine additive Wirkung auf insbesondere die postprandiale Reduktion des Glucosespiegels hat (38). Außerdem steigert es das Sättigungsgefühl und vermindert die Nahrungsaufnahme, was zur Gewichtsreduktion beiträgt.

1.2.4 GLP-1 als Ansatz für die Therapie des Diabetes Mellitus

Somit ist GLP-1 wegen seinen Wirkungen ein potentieller Wirkstoff für die Behandlung des T2DM.

Durch die kurze Halbwertszeit aufgrund des schnellen Abbaus durch die DPP-4 ist die Gabe von nativen GLP-1 nicht sehr erfolgsversprechend.

Das hat die Suche nach neuen Substanzen gefördert, die zu einer verlängerten Wirkung führen wie zum Beispiel:

- GLP-1-Analoga: strukturähnliche Agonisten des GLP-1-Rezeptor, die resistent gegenüber der DPP-4 sind. Ein Vertreter dieser Gruppe ist das Exenatide (Exendin-4), das unter dem Handelsnamen Byetta® zugelassen ist. (Dupre J 2004) (48-50)
- DPP-4-Inhibitoren: Substanzen, die die Aktivität der DPP-4 im Plasma blockieren und dadurch den Abbau der endogenen Inkretinhormone GLP-1 und GIP hemmen und so zu einer Verlängerung deren Wirkung führen (51). Vertreter dieser Gruppe sind die Gliptine z.B Sitagliptin und Vildagliptin.

1.3. Wirkung der Inkretinhormone auf die Motilität

Die beiden bekannten Inkretinhormone beim Menschen sind GLP-1 und GIP.

GIP ist das erstentdeckte Inkretinhormon, seine Wirkung besteht wie vorher erwähnt in der glucoseabhängigen Steigerung der Insulinsekretion.

Im Gegensatz zur GLP-1 hat GIP keinen Einfluss auf die Magenmotilität (23)

GLP-1 ist das zweite Inkretinhormon beim Menschen. Seine Wirkung besteht in der glucoseabhängigen Stimulation der Insulinsekretion, Hemmung der Glucagonsekretion, Hemmung der Magenmotilität und Steigerung des Sättigungsgefühls.

Die gastroduodenalen motorischen Wirkungen von GLP 1 beinhalten (16;17):

- a) Steigerung der Relaxation des Magenfundus
- b) Hemmung der Entleerungspumpe des proximalen Magens
- c) Hemmung der antroduodenalen Motilität und des transpylorischen Flusses
- d) Steigerung der phasischen und tonischen Pylorusmotilität

Die Wirkung von GLP 1 wird zum Teil vagal vermittelt (52;53) und führt durch die Verlangsamung der Magenentleerung zur verminderten Glucoseresorption im Dünndarm.

1.4. Magenmotilität bei Diabetes mellitus Typ II und die Rolle von GLP 1

Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus ist die Glucosehomöostase wie bereits erwähnt gestört. Dadurch resultiert eine hyperglykämische Stoffwechsellage. Durch die langanhaltende Hyperglykämie kann es zu mehreren Komplikationen kommen, u.a. einer autonomen Polyneuropathie.

Die Gastroparese als eine Komplikation lang anhaltender nicht eingestellter DM muss von der funktionellen Magenentleerungsstörung bei Diabetikern unterschieden werden, bei der Hyperglykämie reflektorisch die Magenentleerung verlangsamt als physiologischer feedback-Mechanismus.

Die diabetische Gastroparese ist definiert als eine gastro-autonome Neuropathie mit Vagusschädigung und der Unfähigkeit der neuralen und endokrinen enterischen Systeme, diesen Defekt zu kompensieren (54). Das führt zur: a) gastrointestinalen Symptomen wie: Übelkeit, Erbrechen und chronische Durchfälle usw., b) Malabsorption mit Mangelerscheinungen sowie zur c) Schwierigkeiten der Anpassung von Zeitpunkt und Insulindosis an die veränderte Magenentleerung, resultierend in einer schlechten Diabetes-Einstellung.

Die funktionelle Magenentleerungsstörung wird bei langbestehendem Diabetes mit einer Prävalenz von 26-63 % geschätzt. Einerseits besteht eine Diskrepanz zwischen der gestörten Magenmotilität und den gastrointestinalen Symptomen, so dass viele Diabetiker keine

Symptome zeigen, andererseits können sonst gesunde Menschen mit gastrointestinalen Symptomen eine gestörte Magenentleerung haben ohne bestehenden Diabetes mellitus.(55). Eine Kausalität zwischen Magenentleerungsverzögerung und unspezifischen Symptomen wie Übelkeit, postprandiales Völlegefühl etc. ist schwierig mit großer Überlappung zur funktionellen Dyspepsie.

Die Rolle einer Magenentleerungsstörung beim Diabetiker ist somit bisher nicht gut verstanden. Dies äußert sich auch in zum Teil kontroversen Studienergebnissen.

So zeigten frühere Studien eine verzögerte Magenmotilität bei Diabetiker (7;55;56). Im Gegensatz dazu zeigen neuere Studien unter Berücksichtigung der Glykämie teilweise sogar eine beschleunigte Magenentleerung bei Diabetiker ohne autonome Neuropathie, v.a. in der frühen Phase im Vergleich zur Gesunden (45;57).

Die Motilitätszunahme bestand in diesen Studien trotz bestehender Hyperglykämie, die eigentlich zu einer Magenverzögerung führen sollte.

Selbst eine normale Magenentleerung bei Diabetiker könnte in Rücksicht auf die bestehende Hyperglykämie als relativ beschleunigt betrachtet werden. (55)

Durch eine relativ beschleunigte Magenentleerung kommt es zu einer schnellen Plasmaglucosexkursion. Ein gestörtes Feedback auf die Magenmotilität kann bei verminderter Insulin- und erhöhter Glucagonsekretion sowie bestehender Insulinresistenz zu einer postprandialen Hyperglykämie mit einer Störung der Glucosehomöostase beitragen.

Aus diesem Grund kann die antidiabetische Therapie durchaus auch von einer Verzögerung der Magenentleerung profitieren: Einerseits wird die schnelle Plasmaglucosexkursion verhindert, andererseits kann die resorbierte Glucosemenge durch den Körper besser verarbeitet werden.

GLP-1 bedient diese Wünsche an die Diabetes-Therapie. GLP-1 führt durch die Hemmung der Magenentleerung zur Reduktion der frühen Plasmaglucosexkursion, außerdem stimuliert es glukoseabhängig die Insulin- und hemmt die Glucagonsekretion, was zu einer Senkung der Glucosekonzentration führt und in einer besseren Glucosehomöostase resultiert.

Fazit: die Effekte von GLP-1 auf das Pankreas und die Magenmotilität sind im Hinblick auf die Blutzuckersenkung additiv!

GLP-1 zeigt interessanterweise keinen Motilitäts-hemmenden Effekt bei einer vorhandenen Gastroparese oder anderen Motilitätsstörungen, was wahrscheinlich an der vagal vermittelten Wirkung von GLP-1 liegt.(53;57;58)

Auch die GLP-1 Analoga zeigen einen Effekt auf die Magenmotilität

- Für Exendin-4 konnte neben den anderen Effekten auf Insulin- und Glucagonsekretion eine Verzögerung der Magenentleerung für feste und flüssige Mahlzeit gefunden werden (59). Für die lang wirkende Exenatide-Derivate (1x Woche vs. 2x d) war dieser Effekt allerdings nicht ausgeprägt.(60).
- Eine Einmaldosis von Liraglutide zeigte eine 15 min. Verzögerung der Magenentleerung für Glucose im Vergleich zur Placebo.(61)

Für Vidagliptin als Vertreter der DPP-4 Inhibitoren konnte interessanterweise keine Auswirkung auf die Magenmotilität festgestellt werden, der Grund ist nicht klar (62). Sitagliptin hingegen hemmte die Magenentleerung bei Patienten mit T2DM erwartungsgemäß (63)

1.5. Exendin(9-39) als Rezeptorantagonist für GLP-1

Exendin(9-39) ist die trunkierte und amidierte Form von Exendin-4, die im Speichel der Echse *Heloderma suspectum* gefunden wurde.

Im Gegensatz zu Exendin-4, das eine agonistische Wirkung am GLP-1-Rezeptor zeigt, stellt die trunkierte Form Exendin(9-39) einen kompetitiver GLP-1-Rezeptor-Antagonist dar. (50)

Exendin(9-39) wurde in mehreren Versuchen zur Beurteilung des GLP-1-Effekts verwendet: So hat die Injektion des GLP-1-Rezeptorantagonisten bei Ratten zu einer Verschlechterung der Insulinsekretion und der Glucosetoleranz geführt (64).

Beim Menschen wurde gezeigt, dass Exendin(9-39amid) ein potenter Antagonist des GLP-1-Rezeptors ohne jegliche agonistische Eigenschaften ist. (50)

In einer älteren Studie haben Schirra et al. festgestellt, dass eine Exendin(9-39)-Dosis von 300 pmol/kg/min ausreichend ist um ca. 85% der GLP-1 Wirkung zu antagonisieren (65), später konnten sie nachweisen, dass eine Dosis von 600 pmol/kg/min ausreichend ist um mehr als 95% der endogenen GLP-1 Wirkung aufzuheben, was einen verbleibenden Effekt von GLP-1 praktisch ausschließt (66).

Durch Exendin(9-39) war es erstmals möglich, die endogene Wirkung von GLP-1 zu untersuchen.

So führte die Gabe von Exendin(9-39) bei gesunden Probanden zu einer Reduktion der Insulinsekretion und Steigerung der Glucagonfreisetzung (43;67). Durch die Blockade von GLP-1 durch Exendin(9-39) bei Gesunden wurde außerdem erstmals beschrieben dass die A-Zellen des Pankreas und somit die Glucagonsekretion auch im euglykämischen Bereich unter tonischer Hemmung von GLP-1 steht. (17).

Ebenfalls wurde Exendin(9-39) zur Beurteilung der GLP-1-Funktion auf die Magenmotilität verwendet. So führte seine Gabe bei Gesunden in der postprandialen Phase zu einer Hemmung der Relaxation des proximalen Magens, Steigerung der antroduodenalen Motilität durch Steigerung der antralen und duodenalen Kontraktionsfrequenz und Hemmung der Pylorustonuss (17).



Abbildung 1: Die amerikanische Echse *Heloderma suspectum*, in deren Speichel der GLP-1 Rezeptoragonist Exendin-4 entdeckt wurde

2 Ziel der Arbeit.

Endogen aus den L-Zellen freigesetztes GLP-1 steigert als Inkretinhormon glucoseabhängig die Insulinsekretion und hemmt die Glucagonsekretion. Außerdem hemmt GLP-1 als Enterogastron die gastroduodenale Motilität. Dadurch reguliert es die Glucosehomöostase.

Die Magenentleerung spielt bei der Glucosehomöostase eine wesentliche Rolle. Sie unterliegt bei Gesunden einer hemmenden Regulation sowohl durch die Glykämie als auch durch GLP-1. Die meisten bisherigen Untersuchungen haben die Wirkung von GLP-1 auf dem Inkretineffekt und der Magenmotilität durch die exogene Gabe des synthetischen Peptids untersucht. Die antro-pyloro-duodenale Motilität ist neben der Aktivität des proximalen Magens der wesentliche Regulator der Magenentleerung. (21). Bei Patienten mit T2DM ist die Regulation der gastroduodenalen Motilität durch endogenes GLP-1 unbekannt. Darüber hinaus existieren keine mit Gesunden vergleichende Studien, die die gastroduodenale Motilität unter isoglykämischen Bedingungen untersuchen.

Mit dem spezifischen GLP-1-Rezeptorantagonisten Exendin(9-39) ist es erstmals möglich, die endogene Wirkung von GLP-1 beim Menschen zu untersuchen. Es gibt bis jetzt keine Studie, die die endogene Wirkung von GLP 1 auf die gastroduodenale Motilität bei Patienten mit T2DM untersucht hat. Vorliegende Studie adressierte deshalb die Wirkung von postprandial endogen freigesetztem GLP-1 auf die antroduodenale Motilität bei Gesunden und Patienten mit T2DM unter isoglykämischen Bedingungen und unter Verwendung des spezifischen Rezeptorantagonisten Exendin(9-39).

Um eine konstante Nahrungszufuhr und dadurch konstante Stimulation von GLP-1 unabhängig von der Magenentleerungsgeschwindigkeit zu sichern, wurde eine Mahlzeit intraduodenal mittels einer Sonde appliziert, die gleichzeitig der Messung der antroduodenalen Motilität diente. Zur Gewährleistung isoglykämischer Bedingungen wurden die Blutzuckerkonzentrationen durch eine variable Glukoseinfusion auf identischem Niveau gehalten (isoglykämischer Clamp).

Somit können die Ziele der Arbeit mit den folgenden Fragen zusammengefasst werden:

1. Gibt es Unterschiede der postprandialen antroduodenalen Motilität zwischen Gesunden und Patienten mit T2DM unter isoglykämischen Bedingungen.

2. Welche Rolle spielt das endogene GLP-1 für die Regulation der antroduodenalen Magenmotilität bei Gesunden und Patienten mit T2DM.

3 Material und Methoden

3.1. Genehmigungsverfahren und Einverständniserklärung

Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Projektnummer 073/04 genehmigt. Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte genehmigte die Studie unter der Vorlagennummer 4022386. Die Studie wurde vom Bundesamt für Strahlenschutz unter der Nummer Z5 – 22462/2-2005-043 vom 09.11.2005 zur Anwendung radioaktiver Stoffe oder ionisierender Strahlung am Menschen in der medizinischen Forschung bewilligt. Die Studie wurde von der DFG mit der Genehmigungsnummer 527/5-2 unterstützt.

Es handelt sich um eine randomisierte, einfach-blinde, unizentrische, Placebo-kontrollierte, single-dose Studie im Crossover Design, die 3 Versuchstage für die Patienten beinhaltete. Jeder Studienteilnehmer gab nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung seine schriftliche Einverständniserklärung ab.

3.2 Probanden

An der Studie nahmen 12 gesunde Probanden und 12 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 teil. Die Probanden litten zur Zeit der Studie an keiner schwerwiegenden Erkrankung, hatten keine Anamnese oder klinischen Symptome für eine gastrointestinale Funktionsstörung oder Gastroparese. Sie nahmen zur Zeit der Studie keine Medikamente ein, die einen Einfluss auf die Magenmotilität haben könnten. Sie erhielten vor der Teilnahme an der Studie eine ausführliche körperliche Untersuchung. Die kardiale Funktion wurde durch ein EKG kontrolliert. Hepatische, nephrologische und hämatologische Erkrankungen sowie eine Schwangerschaft wurden laborchemisch durch Blut- und Urin-Screeningtest ausgeschlossen. Bei den gesunden Probanden wurde zum Ausschluss eines latenten Diabetes oder einer Glucosetoleranzstörung ein oraler Glucosetoleranztest (OGTT) durchgeführt.

Die Probanden wurden durch einen Code verschlüsselt archiviert.

Die Gruppe der gesunden Probanden bestand aus sieben männlichen und fünf weiblichen Personen, das Durchschnittsgewicht betrug 86,22 kg ($\pm 17,14$). Die Gruppe der Diabetiker bestand aus sechs männlichen und sechs weiblichen Personen, das Durchschnittsgewicht betrug 81,05 kg ($\pm 14,33$).

Eine detaillierte Übersicht über die Probandendaten zeigt die Tabelle 1.

Gesunde						
Versuchscode	Geschlecht	Alter	Größe (m)	Gewicht(KG)	BMI(kg/m²)	HbA1c
4B1	m	29	1,74	87	28,7	5,3
8B1	w	32	1,6	71,6	28,0	5,0
13B1	w	47	1,585	72	28,7	5,3
18B1	w	56	1,6	67,2	26,3	5,2
21B1	m	30	1,84	95	28,1	5,3
28B1	m	31	1,84	91,8	27,1	4,2
34B1	m	54	1,87	84	24,0	5,3
37B1	m	31	1,8	87	26,9	5,4
42B1	w	40	1,79	85	26,5	4,8
43B1	w	40	1,77	87	27,8	4,8
46B1	m	52	1,9	133	36,8	5,2
47B1	m	51	1,72	74	25,0	5,4
Mittelwert						
		41,08	1,75	86,22	27,82	5,10

Diabetiker						
Versuchscode	Geschlecht	Alter	Größe (m)	Gewicht(KG)	BMI(kg/m²)	HbA1c
3A1	w	57	1,59	67	26,5	6,2
20A1	w	65	1,66	77	27,9	5,9
24A1	w	62	1,665	70	25,3	5,7
25A1	m	62	1,8	103	31,8	
29A1	w	54	1,61	98	37,8	8,0
32A1	m	63	1,69	84,6	29,6	5,5
33A1	w	69	1,58	52	20,8	5,5
40A1	m	59	1,87	88	25,2	5,9
49A1	w	64	1,65	88	32,3	6,7
50A1	m	54	1,68	71	25,2	6,4
51A1	m	42	1,85	91	26,6	6,4
53A	m	67	1,73	83	27,7	8,0
Mittelwert						
		59,83	1,70	81,05	28,06	6,38

Tabelle 1: Probandenübersicht mit Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, BMI und HbA1c

Die Einschluss- und Ausschlusskriterien für beide Gruppen sind im Folgenden im Detail erwähnt:

3.2.1 Einschlusskriterien gesunde Probanden (Healthy subject: HS)

- Männer und Frauen im Alter zwischen 30 und 70 Jahren
- Ausschluss einer Schwangerschaft bei den weiblichen Probanden (postmenopausal, chirurgische Sterilisation, Verwendung von Doppelschutzmethoden für die Kontrazeption oder Urintest)
- Keine Medikation mit Einfluss auf die Magenmotilität (z.B. Acetaminophen, Erythromycin). Kardiale Medikamente mit stabiler Dosierung durften nicht abgesetzt werden.
- HbA1c < 6%
- BMI < 40 kg/m²
- Nüchternblutglucose unter 8 mmol/L (140 mg/dL) beim Screening und am ersten Tag der Studie
- Fähigkeit, die schriftliche Zustimmung vor Studienteilnahme zur Verfügung zu stellen
- Fähigkeit des Probanden, sich mit dem Forscher gut zu verständigen und in die Anforderungen der Studie einzuwilligen

3.2.2 Ausschlusskriterien gesunde Probanden (Healthy subject: HS)

- T1DM, DM resultierend aus pankreatischer Verletzung oder Sekundärformen von DM (z.B. Cushing, Akromegalie)
- T2DM oder eine positive Familienanamnese
- Glucosetoleranzstörung im OGTT: BZ nüchtern > 100, BZ nach 120min > 140 mg/dl
- Bedeutende, begleitende Erkrankung mit Komplikationen für DM oder gestörter Magendarmmotilität (z.B. Nephropathie, autonome Neuropathie und Orthostase)
- Nüchtern Triglyzeride > 5,1 mmol/l (450 mg/dl) innerhalb der letzten 4 Wochen
- Patienten mit Steroide- oder Schilddrüsenhormontherapie (instabile Dosierung)
- Zustand nach gastrointestinalen Operationen (z.B. partielle Darmresektionen, partielle gastrische Resektionen, etc.)
- Positive Anamnese für gastrointestinale Funktionsstörung
- Teilnahme an anderer klinischer Studie innerhalb der letzten 4 Wochen
- Blutspende oder Verlust von mehr als 400 ml Blut innerhalb der letzten 8 Wochen
- Signifikante Erkrankung innerhalb der letzten 2 Wochen

- Klinisch bedeutende EKG-Abweichungen in der Geschichte oder eine positive Familienanamnese für verlängertes QT-Syndrom
- Medikamentenallergie, Allergieanamnese (Asthma, Urtikaria, ekzematöse Dermatitis) und eine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber der in der Studie verwendeten Medikamente
- chirurgische oder klinische Interventionen, die die Absorption, die Verteilung, den Metabolismus oder die Ausscheidung der Medikamente erheblich ändern können
- Immunschwäche in der Anamnese, einschließlich eines positiven HIV-Testergebnisses
- Anamnestische Lebererkrankung oder anormale Leberfunktionstests
- Anamnestischer Drogen- oder Alkoholmissbrauch innerhalb der letzten 12 Monate vor der Teilnahme

3.2.3 Einschlusskriterien Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM)

- Männer und Frauen in Alter zwischen 30 und 65 Jahren
- Ausschluss einer Schwangerschaft bei den weiblichen Probanden (postmenopausal, chirurgische Sterilisation, Verwendung von Doppelschutzmethoden für die Kontrazeption oder Urintest)
- Die antidiabetische Medikation muss eine Woche vor der Teilnahme abgesetzt werden.
- Keine Medikation mit Einfluss auf die Magenmotilität (z.B. Acetaminophen, Erythromycin). Kardiale Medikamente mit stabiler Dosierung durften nicht abgesetzt werden.
- HbA1c: 6,5-10%
- BMI < 40 kg/m²
- Nüchternblutglucose zwischen 7,0-12,2 mmol/L (126-240mg/dL) beim Screening und am ersten Tag der Studie
- Fähigkeit, die schriftliche Zustimmung vor Studienteilnahme zur Verfügung zu stellen
- Fähigkeit, sich mit dem Forscher gut zu verständigen und in die Anforderungen der Studie einzuwilligen

3.2.4 Ausschlusskriterien Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM)

- T1DM, DM resultierend aus pankreatischer Verletzung oder Sekundärformen von DM (z.B. Cushing, Akromegalie)
- Insulintherapie innerhalb der letzten 3 Monate
- Therapie mit Thiazolidindionederivate innerhalb der letzten 3 Monate

- Bedeutende, begleitende Krankheit oder Komplikationen von Diabetes (z.B. Nephropathie, autonome Neuropathie und Orthostase)
- Nüchtern Triglyzeride > 5,1 mmol/l (450 mg/dl) innerhalb der letzten 4 Wochen
- Patienten mit Steroide- oder Schilddrüsenhormontherapie (instabile Dosierung)
- Zustand nach gastrointestinalen Operationen (z.B. partielle Darmresektionen, partielle gastrische Resektionen, etc.)
- Positive Anamnese für gastrointestinale Funktionsstörung
- Teilnahme an anderer klinischer Untersuchung innerhalb der letzten 4 Wochen
- Blutspende oder Verlust von mehr als 400 ml Blut innerhalb der letzten 8 Wochen
- Signifikante Erkrankung innerhalb der letzten 2 Wochen
- Klinisch bedeutende EKG-Abweichungen in der Geschichte oder eine positive Familienanamnese für verlängertes QT-Syndrom
- Medikamentenallergie, Allergianamnese (Asthma, Urtikaria, ekzematöse Dermatitis) und eine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber der in der Studie verwendeten Medikamenten
- chirurgische oder klinische Interventionen, die die Absorption, die Verteilung, den Metabolismus oder die Ausscheidung der Medikamente erheblich ändern konnten
- Immunschwäche in der Anamnese, einschließlich eines positiven HIV-Testergebnisses
- Anamnestische Lebererkrankung oder anormale Leberfunktionstests
- Anamnestischer Drogen- oder Alkoholmissbrauch innerhalb der letzten 12 Monate vor der Teilnahme

3.3 Die Nahrung

Die GLP-1 Sekretion wird hauptsächlich durch Glucose und Lipide stimuliert. Um eine konstante endogene GLP-1 Sekretion und Wirkung unabhängig von der Magenentleerungsgeschwindigkeit zu gewährleisten, wurde die Nahrung über eine Sonde intraduodenal appliziert und zwar mit konstanter Geschwindigkeit.

Als intraduodenale Nahrung diente eine gemischte Lösung bestehend aus 235,6 ml (20 %) Lipovenös-Lösung und 37,5 g Glukosemonohydrat, die auf 900 ml Leitungswasser aufgefüllt wurden. Diese Lösung verfügte über einen Brennwert von 0,675 kcal/ml und wurde mit einer Geschwindigkeit von 3ml/min (2,03kcal/min) infundiert. Somit entspricht die Infusionsrate der durchschnittlichen physiologischen Magenentleerungsgeschwindigkeit (68) und sie liegt über dem Schwellenwert für die GLP-1 Sekretion von 1,4 kcal/min (17).

Der Anteil von Lipid bzw. Glucose an der Mahlzeit beträgt 75 % bzw. 25 %. Der Glucoseanteil wurde so gewählt, um den Effekt der Nahrungsglucose auf die Insulinsekretion zu minimieren. Die duodenale Mahlzeit-Perfusion erfolgt über eine dünne (\varnothing 3.5 mm), 12 lumige, transnasal applizierte duodenale Sonde, über die simultan die antropyloroduodenale Motilität perfusionsmanometrisch gemessen wurde.

3.4 Glucoseinfusion: Isoglykämisch-Hyperglykämischen Clamp

Um identische Bedingungen für die Wirkung von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität bei Gesunden und Diabetikern während einer Hyperglykämie zu ermöglichen, wurde die Plasmaglukose auf einen Wert von 180 mg/dl geclamped (isoglykämisch hyperglykämischer Clamp).

Dieser sogenannte hyperglykämische Clamp erfolgt anfangs durch einen Bolus von 150 mg/kg KG einer 20% Glucoselösung. Danach wird die Glucosekonzentration auf 180 mg/dl (10 mmol/l) geclamped durch eine variable Infusion von 20% Glucose nach dem Algorithmus von DeFronzo (69) unter 1-minütigen Messungen der Blutglucose während der ersten schnellen Phase der Insulinsekretion (10 Min) und darauf folgenden 5-minütigen Messungen der Blutglukose während der zweiten Phase der Insulinsekretion mit einem Glukoseanalysator der Firma Bayer Vital GmbH (Contour®, Basel 4002, Switzerland).

3.5 Blutentnahmen

Über eine am Handrücken in retrograder Richtung angelegte Venenverweilkanüle zur Ermöglichung einer kontinuierlichen Blutentnahme wurden 23 Blutentnahmen zur Bestimmung von Insulin, C-Peptid, Glukagon, GLP-1 und GIP entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten nach Arterialisierung des venösen Blutes durch heated hand Technik (65). Das erfolgt durch eine konstante Erwärmung der Hand auf 40°C durch eine sensorgesteuerte Infrarotlampe, was die Durchblutung am Handrücken durch das Öffnen arteriovenöser Shunts steigert und das venöse Blut arterialisiert.

Die 7 ml Blutentnahmen erfolgten mit EDTA-Röhrchen, die unter Vorlage von 350µl Aprotinin (Trasylol®) (500 IE/ml Blut) zur Hemmung der Fibrinolyse und 350µl Diprotin A 3 mM (50 µl/ml Blut) zur Hemmung der Protease DPP-4 vorbereitet waren. Die EDTA Röhrchen wurden auf Eis gelagert und gleich in einer bereits auf 4° C vorgekühlten Kühlzentrifuge 15 Min. bei

5000 Up/min zentrifugiert. Das Plasma wurde in Eppendorfcups mit 300 µl abpipetiert und bis zur Hormonbestimmung bei -20°C eingefroren.

Für die Messung der Plasmaglukose während des hyperglykämischen Clamps wurden in den ersten 10 Minuten in 2,5 minutigen Abständen und dann bis zum Versuchsende in 5-minütigen Abständen sowie dreimal basal jeweils 0,1 ml Vollblut entnommen.

Zusammen ergibt sich daraus eine Blutmenge von ca. 486 ml für die Hormonbestimmungen sowie ca. 20 ml für Glucosebestimmungen, d.h. insgesamt ca. 500-510 ml Blut über allen Studientagen. Diese Menge entspricht einer einmaligen Blutspende und ist für die Probanden mit keiner Gefahr verbunden.

3.6 Exendin(9-39) amid

Synthetisch in pharmazeutischer Qualität hergestelltes Exendin(9-39)amid wurde kommerziell von der Firma Bachem Clinalfa Products (Läufelfingen, Schweiz) erworben (Product Number C-S-280). Der Peptidgehalt von Exendin (9-39) betrug 100% bei einer Peptidreinheit von 99.5%.

Die benötigte Menge von Peptid wurde in 50 ml menschlichem Albuminserum 1% aufgelöst und mit einem Perfusor mit einer Geschwindigkeit entsprechend einer Dosis von 600 pmol/kg/min gegeben, die für jeden Probanden genau berechnet wurde. Diese Dosis von 600 pmol/kg/min erlaubt Antagonisierung von mehr als 95% der GLP-1 Wirkung (66).

Ein Beispiel für die Exendin-Dosis bei einem Probanden zeigt die Abbildung 2.

Proband - Initialen	Frau L.	
Proband - Code-Nr.	24A3	
Proband - Körpergewicht (kg)	70	
Studie: DPI		
Körpergewicht des Probanden (kg)	70	
EXENDIN(9-39)		
Clinalfa, C-S-280, Batch AC 0623		
Versuchsdauer (min)	180	
Peptidgehalt per vial (nmol/vial)	2967.5	
Study day, Code	3	
Zahl Ampullen Clinalfa, AC0623	3	
	o.K.	
Mindest-Bedarf Exendin (mg)	25.5	
Gesamtverbrauch Exendin (mg)	30	
Gesamtmenge Exendin (pmol)	8902605.5	
Konzentration in 50 ml HSA 1% (Perfusor, pmol/ml)	178052.1	
Exendin(9-39)		
Dosis (pmol/(kg*min))	600	
Infusionsgeschwindigkeit (Perfusor, ml/h)	14.2	
Gesamtverbrauch pro Experiment (ml)	42.5	

Abbildung 2: Ein Beispiel für die Exendindosis und Perfusionsgeschwindigkeit bei einer Probandin

3.7 Registrierung der antroduodenalen Motilität

Die Messung der antro-pyloro-duodenalen Motilität erfolgte perfusionsmanometrisch durch eine 12 Lumen duodenale Sonde (Dentsleeve, Onario Kanada), die an einem Perfusionsmanometer angeschlossen war.

In der Sonde münden 4 Messkanäle im Antrum und 3 im Duodenum über Seitenlöchern in Abständen von 1,5 cm, dazwischen liegt ein Sleeve-Sensor, der 4,5 cm lang ist und bei korrekter Sondenlage transpylorisch liegen soll. Dieser Sleeve-Sensor ist eine dünne Membran, die die Sonde überzieht und die phasische und tonische Druckveränderung im Pylorusbereich registriert. In den Sleeve-Sensor münden 4 Kanäle in 4 Seitenlöchern in Abständen von 1,5 cm. Die Lage der Sonde wird so bestimmt, dass das proximalste Loch des Sleeve im Antrum und das distalste im Duodenum zu liegen kommt.

Das distalste Loch mündet 7 cm distal des letzten Seitenlochs im Duodenum und dient zur duodenalen Mahlzeitperfusion.

Eine schematische Darstellung der Sonde zeigt die Abbildung 3

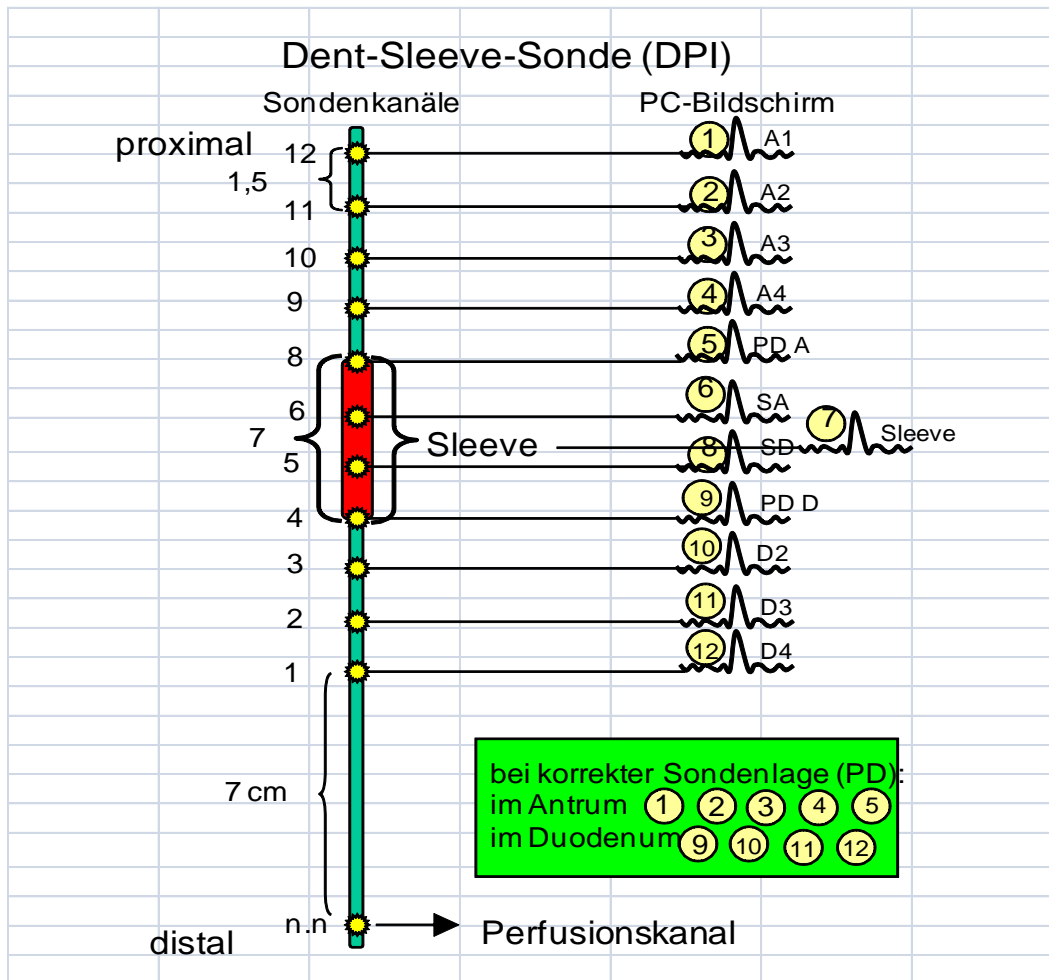


Abbildung 3: Eine schematische Darstellung der antro-pyloro-duodenalen Sonde. In der Sonde münden 4 Messkanäle im Antrum und 3 im Duodenum über Seitenlöchern in Abständen von 1,5 cm, dazwischen liegt ein Sleeve-Sensor, der 4,5 cm lang ist und bei korrekter Sondenlage transpylorisch liegt. Dieser Sleeve-Sensor ist eine dünne Membran, die die Sonde überzieht und die phasische und tonische Druckveränderung im Pylorusbereich registriert. In den Sleeve-Sensor münden 4 Kanäle in 4 Seitenlöchern in Abständen von 1,5 cm. Die Lage der Sonde wird so bestimmt, dass das proximalste Loch des Sleeve im Antrum und das distalste im Duodenum zu liegen kommt. Bei korrekter Sondenlage sind die Ableitungen 1 bis 5 im Antrum und 9-12 im Duodenum. Das distalste Loch mündet 7 cm distal des letzten Seitenlochs im Duodenum und dient zur duodenalen Mahlzeitperfusion.

Die Motilitätskanäle wurden durch eine pneumohydraulische Pumpe (Firma MMS, Niederlande) mit einer Rate von 0,3 ml/min mit Aqua dest. perfundiert, wodurch sie punktuelle Druckmessung aufnehmen. Die Drücke werden von externen Drucksensoren gemessen. Die Daten wurden gleichzeitig auf dem Bildschirm eines Multichannel Chart System (Firma MMS, Niederlande) gezeigt und auf einem PC gespeichert.

Die richtige Sondenlage wurde durch die kontinuierliche Aufzeichnung der transmukosalen Potentialdifferenz (TMPD) über dem Sleeve-Sensor bestimmt und überwacht. Die TMPD ist die Potentialdifferenz zwischen den antralen und duodenalen Seitenlöchern des Sleeve-Sensors (PD A – PD D). Diese zwei Seitlöcher (PD A und PD D) wurden zur Druckmessung wie die anderen Löcher der Sonde perfundiert, allerdings mit NaCl 0,9 % statt mit Aqua dest. Über einen Nebenschluss (Dreiwegehahn) waren sie leitend (1 M KCl mit 3% Agar Agar Lösung) mit Kalomel-Elektroden verbunden. Als gemeinsame Referenzelektrode dient eine Hautelektrode, die an dem rechten Thorax angebracht war. Eine TMPD von mindestens -15 mV zeigte die korrekte Lage der Sonde. (22)

In der Studie wurde die Sondenlage für die meisten Probanden durch die Bestimmung der TMPD kontrolliert. Bei einem geringen Teil der Probanden wurde zum Beginn der Versuche die korrekte Sondenlage durch eine Röntgenaufnahme bestimmt.

Tabelle 2 zeigt eine detaillierte Übersicht über der Kontrolle der richtigen Sondenlage für alle Probanden sowie die Strahlendosis im Falle einer Röntgendurchleuchtung.

Gesunde			Diabetiker		
Code	Geschlecht	Strahlenbelastung	Code	Geschlecht	Strahlenbelastung
4B	w	0.078 mSv	3A	w	0.312 mSv
5B	m	0.023 mSv	20A	w	0.005 mSv
6B	w	0.034 mSv	24A	w	durch Manometrie Kontrolliert
8B	w	0.017 mSv	25A	m	durch Manometrie Kontrolliert
13B	w	0.013 mSv	29A	w	durch Manometrie Kontrolliert
18B	w	0.004 mSv	32A	m	durch Manometrie Kontrolliert
21B	m	durch Manometrie Kontrolliert	33A	w	durch Manometrie Kontrolliert
28B	m	durch Manometrie Kontrolliert	40A	m	durch Manometrie Kontrolliert
34B	m	durch Manometrie Kontrolliert	49A	w	durch Manometrie Kontrolliert
37B	m	durch Manometrie Kontrolliert	50A	m	durch Manometrie Kontrolliert
42B	w	durch Manometrie Kontrolliert	51A	m	durch Manometrie Kontrolliert
43B	w	durch Manometrie Kontrolliert	53A	m	durch Manometrie Kontrolliert
46B	m	durch Manometrie Kontrolliert			
47B	m	durch Manometrie Kontrolliert			

Tabelle 2: Lagekontrolle der Sonde und entsprechender Strahlenbelastung bei radiologischer Lagekontrolle

3.8 Studiendesign

Die Studie besteht aus drei Experimenttagen für jeden Probanden. Zwischen den Versuchstagen wurde ein Intervall von mindestens zwei Tagen eingehalten.

An allen Versuchstagen wurde die Blutglucosekonzentration durch die Clamp-Technik auf einem stabilen hyperglykämischen Niveau von 180 mg/dl eingestellt, um isoglykämische Bedingungen für alle Probanden zu schaffen.

An einem Tag wurde intraduodenal und intravenös nur eine Kochsalzlösung perfundiert, um so einen Vergleich der antroduodenalen Motilität (AD-Motilität) zwischen Gesunden und Diabetikern unter nüchternen Bedingungen bei der gleichen Hyperglykämie (interdigestive Motilität unter Hyperglykämie) zu bekommen.

An den zwei anderen Experimenttagen wurde über die Duodenalsonde die flüssige Mahlzeit (Glucose + Fett) intraduodenal perfundiert, um die postprandiale AD-Motilität bei Gesunden und Diabetikern unter denselben hyperglykämischen Bedingungen zu vergleichen.

An einem dieser beiden Tage erfolgte zusätzlich die intravenöse Infusion von Exendin(9-39), um GLP-1 zu antagonisieren und dadurch den GLP-1 Effekt auf die postprandialen AD-Motilität unter hyperglykämischen Bedingungen bei Gesunden und Diabetikern genauer zu verifizieren.

Die Versuchstage wurden randomisiert und die Probanden über die Experimenttage verblindet, damit die Ergebnisse nicht durch mögliche Erwartungshaltungen verfälscht werden können.

Eine Übersicht über die Experimenttage zeigt die folgende Tabelle:

Study day	duodenal perfusion	IV infusion	IV glucose 20% (clamp hyperglycemia at 180 mg/dl)
1	2.03 kcal/min	Saline	ja
2	2.03 kcal/min	Exendin(9-39) at 600*pmol/kg/min	ja
3	Saline	Saline	ja

Tabelle 3: Die Experimenttage mit den entsprechenden duodenalen Perfusionen und intravenösen Infusionen. Tag 3 diente der isoglykämische Nüchtern-Kontrolle. Durch die duodenale Mahlzeitperfusion am Tag 1 kann die Wirkung der Mahlzeit auf die antroduodenale Motilität ermittelt werden. Durch zusätzliche Exendininfusion am Tag 2 kann der Effekt von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität untersucht werden.

3.8.1 Ablauf eines Experimenttages

Die Versuche starteten um 7:30 Uhr am Morgen nach einer Nüchternheitsphase von mindestens 12 Stunden und dauerten jeweils ca. 4 Stunden.

Als erstes schluckten die Probanden die transnasal eingeführte Duodenalsonde, die an dem Manometrie-Gerät angeschlossen wurde.

Die Sonde wurde intraduodenal gelegt und die Lage wurde durch die Bestimmung der transpylorischen Potentialdifferenz oder durch das Vorhandensein von antralen und duodenalen Kontraktionen in den entsprechenden Ableitungen kontrolliert. Bei fehlender Potentialdifferenz und antroduodenalen Kontraktionen (ca. 25% der Fälle) wurde die Sondenlage durch eine Röntgendurchleuchtung bestimmt. (siehe Tabelle 2)

Danach wurden zwei venöse Zugänge angelegt. Eine in einer cubitalen Vene der einen Seite. Sie diente zur Infusion von Glucose und Exendin(9-39). Am Handrücken der anderen Seite wurde ein venöser Zugang in einer retrograden Richtung angelegt. Dieser Zugang wurde zur Blutabnahme verwendet, nachdem das Blut durch die "Heated-Hand" Technik arterialisiert wurde.

Nach einer Pause von mindestens 15 Minuten zur Beruhigung des Probanden, um so den Einfluss von Stressfaktoren auf den Glucosestoffwechsel zu minimieren, wurde mit dem Versuch begonnen.

An allen Versuchstagen wurde ab der Minute 0 mit dem hyperglykämischen Clamp begonnen, der bis zum Ende des Versuchs (Minute 180) fortgesetzt wurde.

Dieser sogenannte hyperglykämische Clamp erfolgt anfangs durch einen Bolus von 150 mg/kg KG einer 20% Glucoselösung. Danach wird die Glucosekonzentration auf 180 mg/dl (10 mmol/l) geclamped durch eine variable Infusion von 20% Glucose nach dem Algorithmus von DeFronzo bei regelmäßiger Bestimmung der Plasmaglutucose. (69)

Ein Beispiel über dem hyperglykämischen Clamp zeigt die folgende Abbildung 4

[illegible]

30 Minuten vor dem Beginn des Clamps (-30 min) wurde die duodenale Perfusion gestartet und zwar mit einer Kochsalzlösung am Tag 3 und mit der flüssigen Mahlzeit mit einer Geschwindigkeit von 2,03 kcal/min an den Tagen 1 und 2. Die duodenale Perfusion lief dann bis zum Versuchsende (Minute 180).

30 Minuten vor dem Beginn der duodenalen Perfusion und dementsprechend 60 Minuten vor Anfang des Clamps (Minute -60) wurde mit der intravenösen Infusion begonnen und zwar mit Kochsalzlösung an den Tagen 1 und 3 und mit Exendin(9-39) 600 pmol/kg/min am Tag 2.

Der Beginn der Exendinperfusion 30 Minuten vor der Mahlzeit dient der Antagonisierung der GLP-1 Rezeptoren vor der GLP-1-Freisetzung durch die Mahlzeit. Die Exendininfusion lief bis zur Minute 120, danach wurde sie gestoppt, um einen möglichen Rückkehreffekt der GLP-1-Wirkung zu evaluieren (Recoveringeffect).

Während der gesamten Versuchsdauer wurde die antroduodenale Motilität gemessen. Der Beginn und das Ende der jeweiligen duodenalen und intravenösen Infusionen an den Minuten -60 (Exendin/Saline), -30 (Nahrung/Saline), 0 (Clamp) und 120 (Ende Exendin) wurden auf dem Bildschirm des Multi Chanel Display notiert und bekamen für die Auswertung die Marker 1-4.

Ebenfalls erfolgten über der gesamten Versuchsdauer regelmäßige Blutentnahmen in bestimmten Zeitabständen zur Hormon- und Glucosebestimmung. Nach 2 basalen Blutentnahmen an den Minuten -70 und -60 folgten bis zum Beginn des hyperglykämischen Clamps 4 Blutentnahmen in einem Abstand von 15 Minuten. Nach dem Beginn des Clamps wurden in den ersten 10 Minuten 4 Blutentnahmen in 2,5minütigen Abständen und dann 2 Blutentnahmen an den Minuten 15 und 20 durchgeführt. Diese engmaschigen Blutentnahmen am Anfang des Clamps dienten zur genauen Clampeinstellung während der ersten Phase der biphasigen Insulinsekretionsmuster. Ab der Minute 30 bis zum Ende des Versuchs erfolgten 11 Blutabnahmen in regelmäßigen Abständen von 15 Minuten. Daraus ergeben sich insgesamt 23 Blutentnahmen.

Da sich diese Studie hauptsächlich mit der Regulation der antropyloroduodenalen Motilität durch GLP-1 beschäftigte, werden nur GLP-1 und die Plasmaglukose bei der Ergebnissen dargestellt. Die anderen Hormone zur Beurteilung des Inkretineffekts (Insulin, C-Peptid, Glucagon und GIP) werden im Rahmen der Dissertation von Dr. Luciano Carneiro explizit dargestellt und erläutert.

Ein Überblick über der Studiendesign zeigt die folgende Abbildung 5:

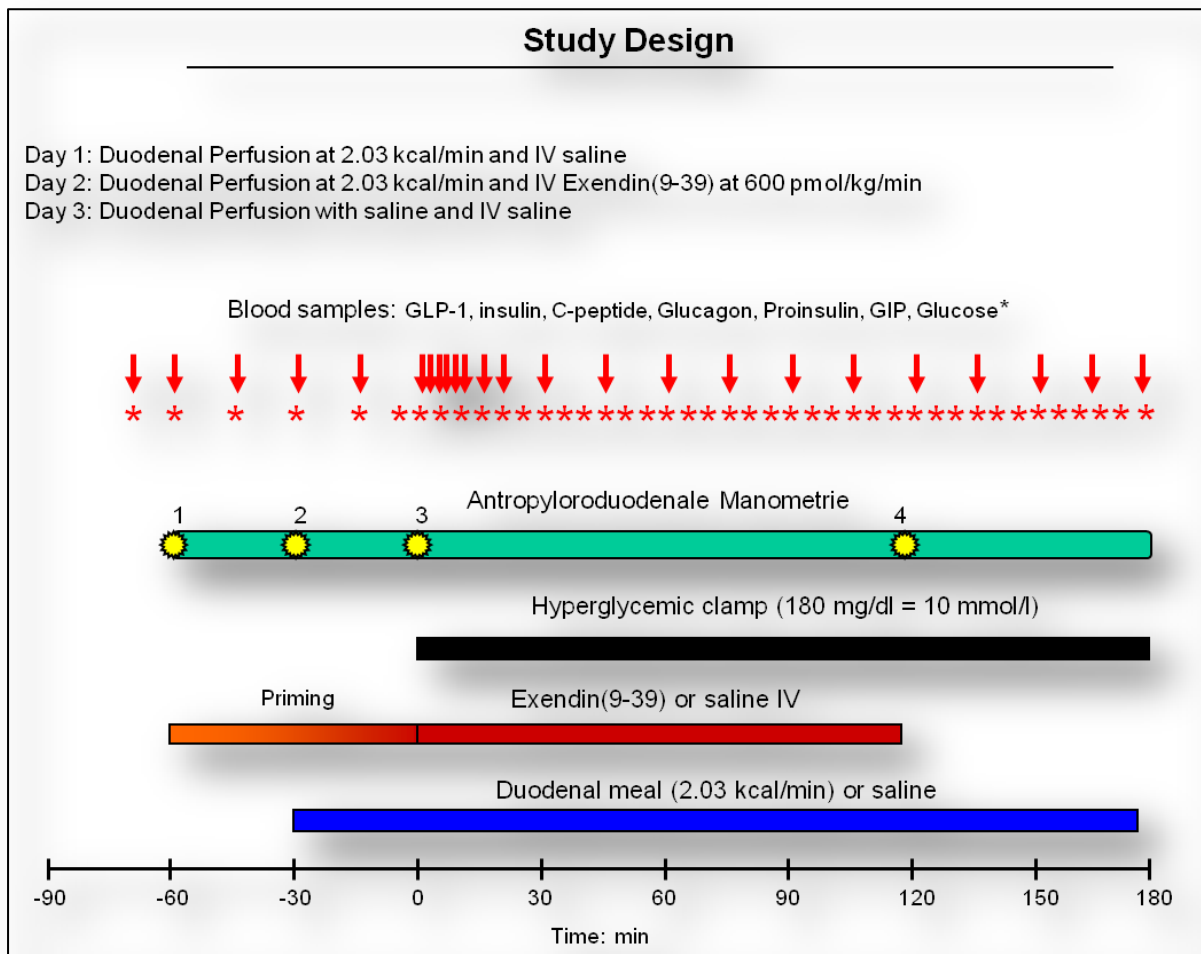


Abbildung 5: Studiendesign: Die roten Pfeile zeigen die Blutentnahmen und die Sterne die Bestimmung der Plasmaglukosekonzentration. Die gelben Punkte mit den Zahlen zeigen die Manometriemarker. Der grüne Balken zeigt die Manometriemessung, die anderen Balken (Schwarz, Rot und Blau) die entsprechenden Infusionen auf die Zeitachse. Die Bedeutung der Zeitabschnitte ist wie folgt:

- -60 - -30: Blockade der GLP-1-Rezeptoren mit Exendin(9-39) am Tag 2 zur Beurteilung des GLP-1 Effekts.
- -30 – 0: Effekt der duodenalen Mahlzeit mit und ohne Exendin(9-39) auf die APD-Motilität unter Eugykämie.
- 0- 120: Effekt der duodenalen Mahlzeit mit und ohne Exendin(9-39) auf die APD-Motilität unter Hyperglykämie.
- 120-180: Beurteilung eines möglichen GLP-1-Rückkehrreffekts nach Beenden der Exendininfusion am Tag 2. (Recoveringseffekt).

3.9 Auswertung und Analyse

3.9.1 Auswertung der antroduodenalen Motilität

Zur Auswertung wurden die manometrischen Motilitätsdaten, die mit den Markern gekennzeichnet werden, in je 10minütige Perioden unterteilt. Entsprechend der Zeit zwischen zwei Markern hat jeder Marker eine bestimmte Anzahl an Perioden wie die Tabelle 4 zeigt

Marker	Versuchs minute	Bedeutung	Dauer (min)	Anzahl an Perioden	Periodennummer
1	-60	Beginn i.v. Infusion (Saline or Exendin)	30	3	1.1-1.3
2	-30	Beginn duodenale Perfusion (Saline or Nahrung)	30	3	2.1-2.3
3	0	Beginn hyperglyk. Clamp	120	12	3.1-3.12
4	120	Ende i.v. Infusion (Exendin)	60	6	4.1-4.6

Tabelle 4: Die Manometriemarker mit ihren Dauer und ihrer Bedeutung sowie die Anzahl und Nummer der entsprechenden Perioden für die Auswertung

Daten mit inkonklusiver Sondenlage (TMPD > -15 mV) oder Artefakten wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt. (ca. 25 % der Daten).

Die Sondenkanäle leiten phasische und tonische Druckveränderung ab. Alle Daten wurden computergestützt ausgewertet. Um eine Verfälschung durch tonische Druckschwankungen im Verlauf des Versuches zu verhindern, wurde alle 30 Sekunden die Basislinie für alle Ableitungen neu bestimmt.

Eine Kontraktion ist definiert als Druckerhöhung von mindestens 10 mmHg über der Basislinie und Dauer von mindestens 3 s. Der Basaldruck ist der Druck über der Basislinie nach Ausschließen der phasischen Kontraktionswellen.

Aus den Rohdaten wurden für Antrum und Duodenum folgende Motilitätsparameter bestimmt:

Kontraktionsamplitude, Kontraktionsfrequenz und Motilitätsindex.

Diese Parameter wurden als Summe (Kontraktionszahl, Motilitätsindex) bzw. als Mittelwert (Amplitude) der antralen bzw. duodenalen Kanäle berechnet.

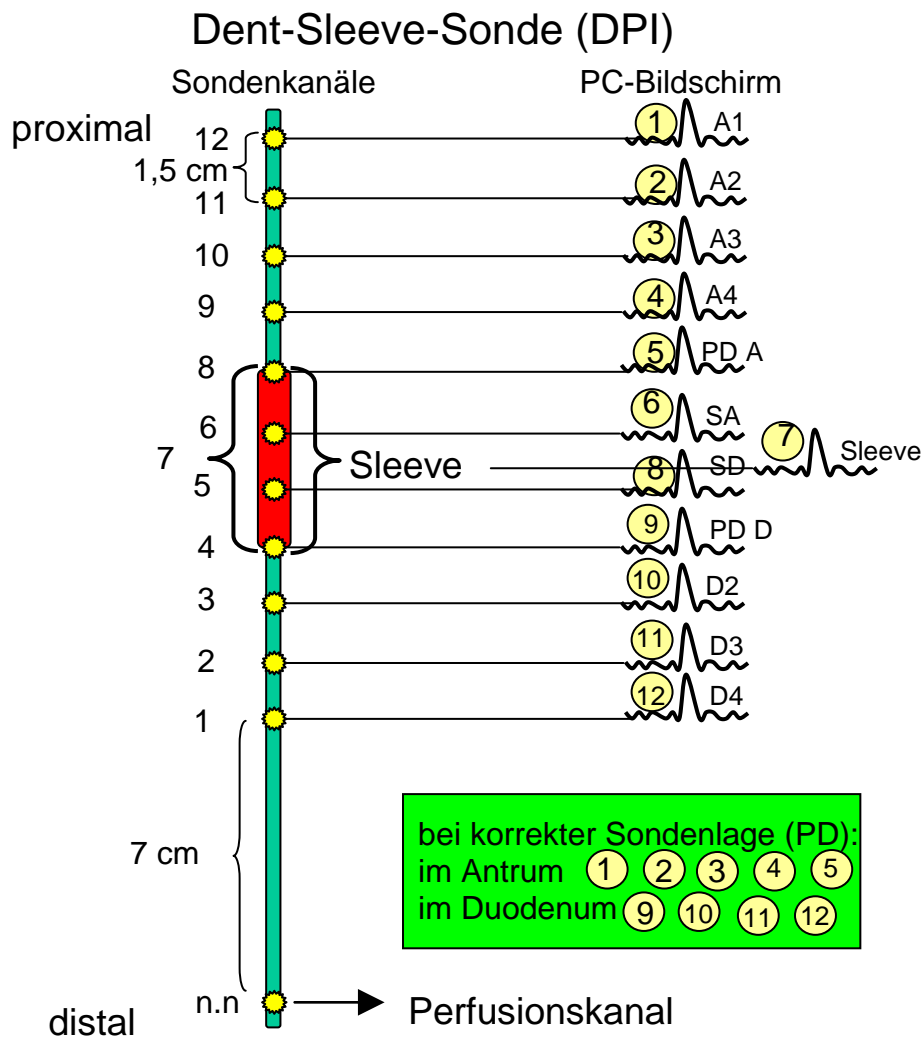
Während die Kontraktionsfrequenz die Anzahl der Kontraktionen pro 10minütiger Periode ist, wird der Motilitätsindex als Integral der Kontraktionsaktivität (Fläche unter den Kontraktionen) mit der Einheit mmHg*s/10min definiert.

$$\text{Motilitätsindex} = \int_n^{n+1} \frac{\text{Kontraktionsamplitude} * \text{Kontraktionsdauer}}{\text{Periodendauer}}$$

n: Periodennummer

Die antralen und duodenalen Daten wurden aus den entsprechenden Ableitungen der Sondenkanäle entnommen (siehe Tabelle 5). Bei korrekter Sondenlage sind es 5 antrale und 4 duodenale Ableitungen. Die Pyloruskanäle (Sleeve-Ableitungen) SA und SD können sowohl antrale als auch duodenale Kontraktionen ableiten und werden deshalb für die Auswertung der antralen und duodenalen Motilität nicht mit einbezogen.

Die Tabelle 5 zeigt die antralen und duodenalen Ableitungen und die entsprechenden Sondenkanäle.



	Antrum					Pylorus		Duodenum			
Ableitung auf dem PC Bildschirm	A1	A2	A3	A4	PD A	SA	SD	PD D	D2	D3	D4
Sondenkanal	12	11	10	9	8	6	5	4	3	2	1

Tabelle 5: Die antralen und duodenalen Ableitungen und deren entsprechenden Sondenkanäle.
Bei korrekter Sondenlage zeichnen 5 antralen und 4 duodenalen Kanäle die Manometrie auf

Wenn die Sonde sich auf die antrale oder duodenale Seite verschiebt, müssen die Daten für die Auswertung korrigiert werden. Dabei wird der betroffene Kanal in den jeweils nächsten Sleeve-Kanal verlegt (SA oder SD).

Beispiel:

Wenn der Kanal D2 im Magen liegt, wird er auf den Kanal SD verlegt, so sind noch die Kanäle D3 und D4 im Duodenum.

Oder wenn der Kanal A3 im Duodenum liegt, wird er auf den Kanal SA verlegt. Somit blieben die Kanäle A1 und A2 noch im Antrum.

So können Fehler eliminiert werden und es bleiben aufgrund der hohen Anzahl der Kanäle immer noch genügend Ableitungen für die Auswertung vorhanden.

Die Parameter: Frequenz, Amplitude und Motilitätsindex der antroduodenalen Motilität wurden am Anfang für jeden Probanden allein bestimmt. Diese Parameter wurden aus den Rohdaten als Summe (Kontraktionszahl, Motilitätsindex) bzw. als Mittelwert (Amplitude) berechnet.

Dabei wurden diese Parameter für jeden Probanden für jede 10 min-Periode getrennt bestimmt und als Mittelwert der Daten der entsprechenden Ableitungen berechnet.

Motilitätsparameter einer Periode für einzelnen Probanden an einem Versuchstag:

$$y = \frac{\Delta x (x: \text{Summe der Werten aus der Ableitungen})}{n (\text{Anzahl der entsprechenden Ableitungen})}$$

Für den Antrum ist x: A1- A4 und PD A. n: 1-5

Für das Duodenum ist x: D2 –D4 und PD D. n: 1-4

Danach werden die Motilitätsparameter in jeder Periode für alle Probanden in der jeweiligen Gruppe (Gesunde / Diabetiker) berechnet und als Mittelwert mit der Standardabweichung ermittelt.

Motilitätsparameter einer Periode für alle Probanden an einem Versuchstag:

$$Z = \frac{\Delta y (y: \text{Summe der Werten der einzelnen Probanden})}{12 (\text{Anzahl der Probanden in einer Gruppe})}$$

Ein Beispiel über die Sondenkorrektur und die Berechnung der Motilitätsparameter zeigt die folgende Tabelle (Tabelle 6):

Der obere Abschnitt der Tabelle 6 zeigt den Parameter: Motilitätsindex für den Probanden 20A an dem dritten Versuchstag (20A3).

Ab der Minute 30 ist die Sonde in den Antrum gerutscht. Die duodenale Ableitung PD D zeigte dementsprechend antrale Kontraktionen. Die Ableitung PD D wird daher für die Auswertung auf den Kanal SD verlegt.

Die duodenale Motilität wird deshalb ab der Minute 30 für jede Periode aus den restlichen 3 Ableitungen berechnet. Die antrale Motilität wird weiterhin aus 5 Ableitungen berechnet, wobei ab der Minute 30 die Ableitung A1 von der Auswertung ausgeschlossen wird.

Zum Beispiel wird für die Periode 1.3 der Motilitätsindex des Antrums aus dem Mittelwert der Ableitungen A1 bis PD A berechnet. Anders wird der Motilitätsindex des Duodenums für die Periode 3.10 aus dem Mittelwert der Ableitungen PD D bis D 3 berechnet.

Der untere Abschnitt der Tabelle 6 zeigt den Parameter Motilitätsindex des Antrums für alle Probanden aus der Diabetikergruppe an dem Versuchstag 3. Die Daten der Probanden 20 A 3 aus der ersten Tabelle sind in der zweiten Tabelle zu sehen.

3.9.2 Analyse der Plasmaglycose und der Inkretinhormone (GLP-1 und GIP):

Die Blutglukosekonzentration des arterialisierten Blutes wurde mittels Glukoseoxidasemethode bestimmt. Dazu wurde ein Glukoseanalysator der Firma Bayer Vital GmbH (Contour®, Basel 4002, Switzerland) verwendet.

Die Bestimmung der Immunreaktivität von bioaktivem GLP-1(7-36) wurde nach Alkoholextraktion des Plasmas durch einen Sandwich-Immuno-Lumineszenz-Assay (ILMA) unter Verwendung eines Capture-Antikörpers und eines Detectio-Antikörpers gemessen. Alle Antikörper stammen von BioPorto Diagnostics A/S, Grusbakken 8, DK-2820 Gentofte, Denmark. Der ILMA wurde von Gerald Spöttl, Medizinische Klinik II, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern, durchgeführt. Das Antiserum reagiert zu 100% mit GLP-1(7-36)amid, zeigt aber keine Kreuzreaktion mit GLP-1(7-37)amid, GLP-1(9-37)amid, GLP-2(1-33)amid, GIP(3-42)amid, Glucagon(1-29)amid und Exendin(9-39)amid (jeweils nicht messbar). Die untere Nachweisgrenze (lower detection limit) beträgt 0.4 pM mit einem linearen Anstieg der RLU (relative light units) von 0.4-50 pM.

Kommerzielle Kits für GIP (ELISA, Human GIP (insgesamt) ELISA Kit, Linco Research) wurden von Biotrend (Hamburg, Deutschland) gekauft.

Die Blutzuckerkonzentrationen wurden als absolute Werte berechnet.

Die Plasmahormonkonzentration von GLP-1 und GIP wurde vor Beginn des hyperglykämischen Clamp als absoluter Wert berechnet, danach wird sie als AUC (area under the curve) über die individuellen Basalwerte berechnet. Basale Werte sind definiert als der Mittelwert der Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt -70 und -60 min des jeweiligen Untersuchungstags.

3.10 Statistik

Alle Daten wurden berechnet als Mittelwert \pm SEM (SEM: Standardabweichung des Mittelwerts).

Als Statistik-Software wurde SigmaStat für Windows, Version 2.03, eingesetzt (SPSS inc.). Die Normalverteilung der Daten wurde zunächst mit dem Kolmogoroff-Smirnov-Test überprüft. Effekte von Exendin 9-39 sowie Unterschiede zwischen Gesunden und Diabetikern wurden untersucht mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse für wiederholte Messungen und eine Ein-Faktor-Wiederholung (2way RM ANOVA, one factor repetition). Die unabhängigen Faktoren waren die Kombination aus intravenöser Infusion und duodenaler Perfusion (Tag 1: duodenale Mahlzeit/intravenöses 0.154 M NaCl, Tag 2: duodenale Mahlzeit/intravenöses Ex-9 und Tag 3: duodenales 0.154 M NaCl/ intravenöses 0.154 M NaCl = isoglykämische Kontrolle) sowie der Diabetes-Status (Gesunde oder T2DM).

Wenn der ANOVA einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Infusion/Perfusion beschrieb, wurden Subgruppen-Unterschiede mit dem Student-Newman-Keuls-multicomparison-Test als posthoc-Test analysiert. Der 2way ANOVA erlaubt eine Subgruppenanalyse unter Berücksichtigung einer signifikanten Interaktion zwischen den Faktoren. Wenn der ANOVA eine signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren zeigte – das bedeutet: Effekte der Infusion sind abhängig vom Diabetes-Status -, wurden alle Subgruppen-Unterschiede ebenfalls mit dem Student-Newman-Keuls-Test analysiert (all-pairwise comparison). Unterschiede waren bei $P < 0.05$ signifikant.

4 Ergebnisse

Zwölf gesunde Probanden und zwölf Probanden mit T2DM wurden an drei Versuchstagen Untersuchungen unterzogen, um die antroduodenale Motilität mit und ohne GLP-1-Rezeptorblockade zu untersuchen. Die Stimulation von GLP-1 erfolgte an zwei Tagen durch eine duodenale Nährstoffperfusion (2.03 kcal/min), die Wirkung auf die antroduodenale Motilität wurde unter einer Hyperglykämie von 180 mg/dl untersucht (hyperglykämischer Clamp) um gleiche Bedingungen zwischen den beiden Gruppen zu schaffen. An einem der zwei Tage mit der duodenalen Nährstoffperfusion wurde der GLP-1-Rezeptorantagonist Exendin(9-39), an dem anderen NaCl 0.9% intravenös verabreicht. Ein dritter Tag, an dem statt Nahrung NaCl 0.9% duodenal perfundiert wurde, diente als eine isoglykämische Kontrolle, um die Wirkung der Nährstoffperfusion und Exendin auf die antroduodenale Motilität zu ermitteln. . Zwei gesunde Probanden schieden nach dem ersten Versuchstag aus wegen Intoleranz der nasoduodenalen Sonde. Die übrigen Probanden absolvierten alle Untersuchungen. Exendin(9-39) wurde gut und nebenwirkungslos vertragen. Die korrekte Lage der nasoduodenalen Sonde wurde überwiegend manometrisch anhand des typischen Musters der antroduodenalen Motilität kontrolliert; nur zu Beginn der Studie wurde die Sondenlage zusätzlich unter Durchleuchtung kontrolliert. Die Daten der damit verbundene Strahlenbelastung wurden dem Bundesamt für Strahlenschutz mitgeteilt.

4.1. Plasmaglukosekonzentration und der hyperglykämische Clamp

Die folgende Tabelle 7 zeigt die Werte von der Plasmaglukosekonzentration bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

	HS			T2DM		
Plasmaglukose			Fasting isoglycemic control			Fasting isoglycemic control
	Duodenal meal		Duodenal saline	Duodenal meal		Duodenal saline
	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv
	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag1	Tag 2	Tag 3
-70 - -60min (basal)	84±3	85±2,0	86±2	122±6	122±5	116±5
-60 - -30min (fasting)	85±3	92±3 *	83 ± 2	118±6 #	129±5 *#	112±5
-30 - 0min (add duodenal meal)	92±3 §	98±3 §	85±2	126±6 #§	145±4 *#§	111±6
0 - 120min (add hyperglycemic clamp)						
0 – 10 min Einstellungsphase	194 ± 4	193 ± 3	190 ± 4	192 ± 3	191 ± 2	191 ± 4
15 – 180 min Stady state	178 ± 0.5	179 ± 0.3	178 ± 0.2	181 ± 0.5	187 ± 2.7 *§#	181 ± 0.3

Tabelle 7: Plasmaglukosekonzentration (Mittelwert ± SEM) bei Gesunden und Diabetiker während der Versuche. Blutglukosekonzentrationen sind als absolute Mittelwerte angeben

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodenaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

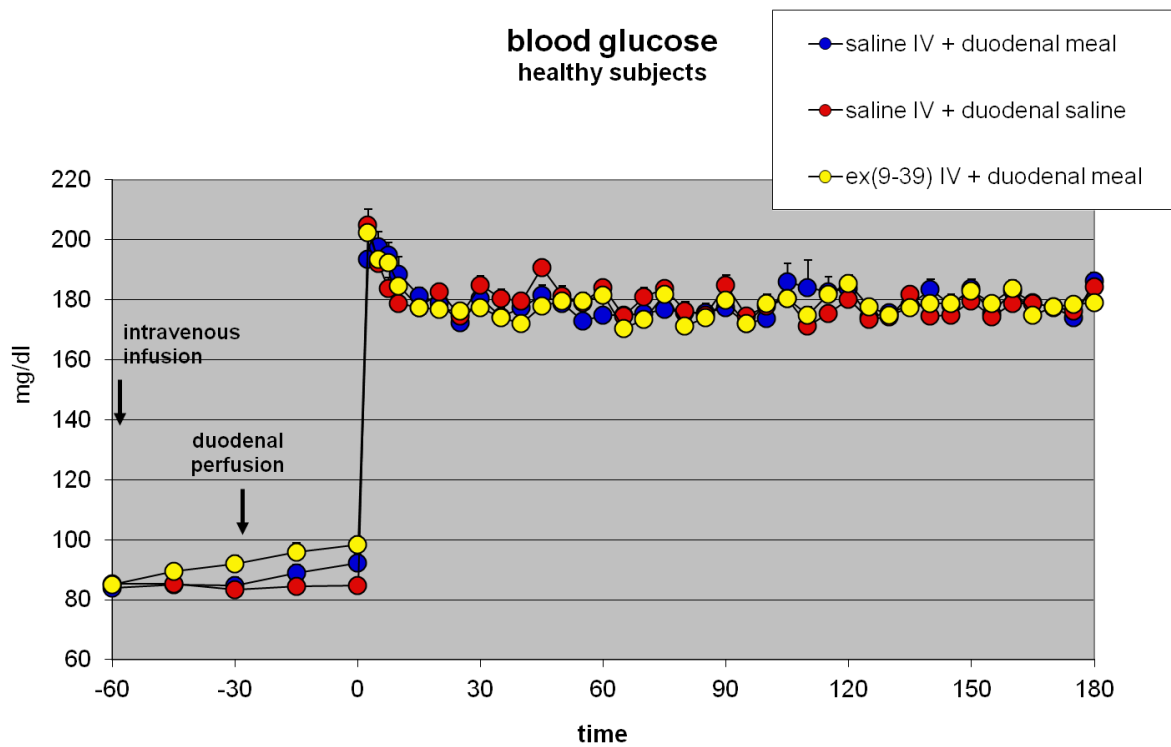
Der basale Spiegel der Plasmaglukose ist bei Gesunden mit einem mittleren Wert von etwa 85 mg/dl im Normbereich, die Diabetiker haben im Vergleich zu den Gesunden erwartungsgemäß erhöhte initiale Basalwerte (Mittelwert etwa 120 mg/dl).

Vor Beginn des hyperglykämischen Clamps steigerte die duodenale Mahlzeit die Blutzuckerspiegel gering, aber signifikant. Exendin(9-39) führte zu einer weiteren signifikanten Steigerung der Blutzuckerkonzentrationen bei Gesunden und Diabetikern. Dabei ist die Blutzucker-steigernde Wirkung von Exendin(9-39) vor Start der duodenalen Mahlzeit (bei Gesunden $85 \pm 2,0 \rightarrow 92 \pm 3$ mg/dl. Bei Diabetikern $122 \pm 5 \rightarrow 129 \pm 5$, $p < 0,05$) vor allem zu erklären durch die fehlende tonische Hemmung von GLP-1 auf die Glucagonsekretion. (20)

Nach Beginn des hyperglykämischen Clamps zeigen sich in den ersten 10 Minuten (Einstellungsphase) folgende Glucosewerte 194 ± 4 , 193 ± 3 , 190 ± 4 mg /dl bei Gesunden und 192 ± 3 , 191 ± 2 , 191 ± 4 mg/dl bei Diabetikern an den entsprechenden Tagen 1, 2 und 3. Danach waren die Glucosekonzentrationen bis zum Ende der Versuche (Stady stat Phase) wie folgt: 178 ± 1.2 , 178 ± 0.4 und 177 ± 0.5 mg/dl bei Gesunden und 180 ± 1.0 , 187 ± 2.7 und 181 ± 0.8 mg/dl bei Diabetikern an den entsprechenden Tagen 1, 2 und 3. Auch wenn in der Diabetikergruppe am Tag 2 (duodenale Mahlzeit + i.v. Exendin) die Glucosekonzentration mit 187 ± 2.7 minimal aber signifikant höher als an anderen Tagen, ist dieser Unterschied so klein, dass es vernachlässigbar ist. Somit herrschten bei den Diabetikern und Gesunden an allen Versuchstagen die gleichen Bedingungen im Bezug auf die Hyperglykämie.

Die Abbildung 6 zeigt die stabilen Glucosewerte während des hyperglykämischen Clamps auf einen Zielwert von 180 mg/dl während der gesamten Versuche bei Gesunden und Diabetikern.

A. healthy subjects



B. T2DM

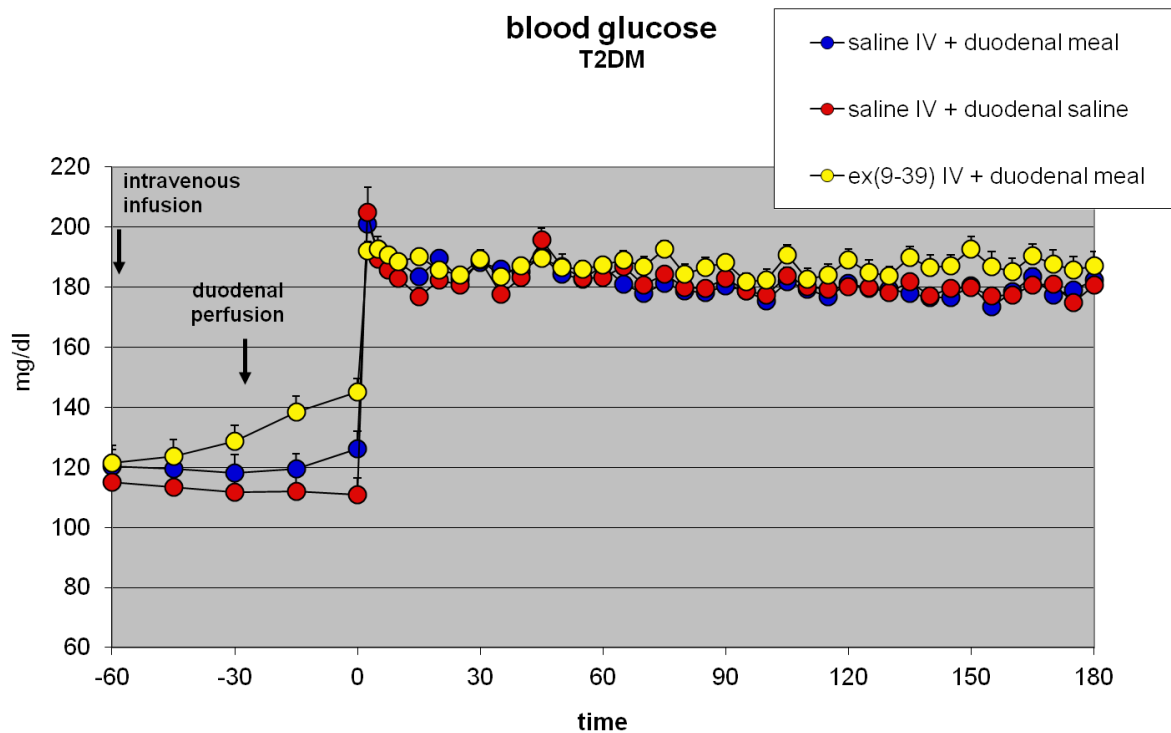


Abbildung 6: Blutglukosekonzentration in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM. Beachte die stabilen Glucosewerte während des hyperglykämischen Clamps auf einen Zielwert von 180 mg/dl

4.2. Stimulierung der Darmhormone durch die duodenale Mahlzeit

Um die Effekte von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität zu untersuchen, wurde die endogene GLP-1 Sekretion durch eine gemischte Mahlzeit stimuliert. Um konstante Sekretionsmuster unabhängig von der Magenentleerung zu erreichen, wurde die Mahlzeit intraduodenal kontinuierlich verabreicht und zwar mit einer Geschwindigkeit von 2,03 kcal/min, die wie bereits beschrieben der mittleren physiologischen Magenentleerungsgeschwindigkeit entspricht und oberhalb des Schwellenwerts für die Sekretion von GLP-1 ist.(17;22)

Mit GLP-1 wird natürlich auch das andere Inkretinhormon GIP freigesetzt.

4.2.1 GLP-1

Die folgende Tabelle zeigt die Plasmakonzentrationen von GLP-1 während den entsprechenden Versuchstagen:

Tabelle 8 Plasmakonzentration von GLP-1 bei Gesunden und Diabetiker

	HS			T2DM		
GLP-1 pmol/l			Fasting isoglycemic control			Fasting isoglycemic control
	Duodenal meal		Duodenal saline	Duodenal meal		Duodenal saline
	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv
	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag1	Tag 2	Tag 3
-70 - -60min (basal)	0.3±0.06	0.3±0.06	0,4± 0,1	0.2±0.05	0.3±0.07	0,3± 0,1
-60 - -30min (fasting)	0.5±0.1	0.4±0.08	0,6± 0,1	0.7±0.3	0.9±0.2	0,6 ± 0,2
-30 - 0min (add duodenal meal)	2.5±0.6 §	3.0±0.8 §	0,5± 0,1	2.4±0.7 §	4.0±1.3 §	1,6 ± 0,7
0 - 120min (add hyperglycemic clamp)						
60 – 120 min pM.min über Basal	83.3 ± 24.9 §	113.7 ± 30.0 *§	-8.2 ± 5.2	128 ± 24 §	204 ± 38 *§	10.2 ± 9.3

Tabelle 8: GLP-1 Plasmakonzentrationen (Mittelwert ± SEM) bei Gesunden (HS) und Diabetiker (T2DM). Die Plasmahormonkonzentrationen von GLP-1 sind vor Beginn des hyperglykämischen Clamps als absolute Werte und nach Beginn des Clamps als über die nüchtern basalen Werte ansteigende AUC berechnet. (2 way RM ANOVA):

***:P<0.05: signifikanter Unterschied verglichen mit intravenöser NaCl 0.9%/duodenaler Mahlzeit;**

§:P<0.05: signifikanter Unterschied verglichen mit dem isoglykämischen Kontrollexperiment

#:P<0.05: signifikanter Unterschied zwischen Diabetikern und Gesunden

Die basalen Spiegel von GLP-1 waren bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen gleich.

Exendin(9-39) führt vor Beginn der intraduodenalen Mahlzeitperfusion zu keiner signifikanten Änderung der GLP-1 Konzentration bei Gesunden und Diabetikern ($P=0,7$). In dieser Zeit der Exendin(9-39)infusion am Tag 2 wurden die GLP-1 Rezeptoren blockiert.

Nach Beginn der duodenalen Mahlzeit ab der Minute -30 kam es zu einer deutlichen signifikanten Steigerung der GLP-1 Konzentrationen sowohl bei Gesunden ($P=0,01$) als auch bei Diabetikern ($p=0,03$).

GLP-1 zeigte einen Sekretionspeak 30 Minuten nach dem Beginn der Mahlzeit und zeigte eine Plateauphase während der duodenalen Mahlzeitperfusion. In dieser Plateauphase (berechnet in dem Intervall 60-120min) erreichte die GLP-1 Konzentration das Fünffache im Vergleich zur duodenalen Salineinfusion.

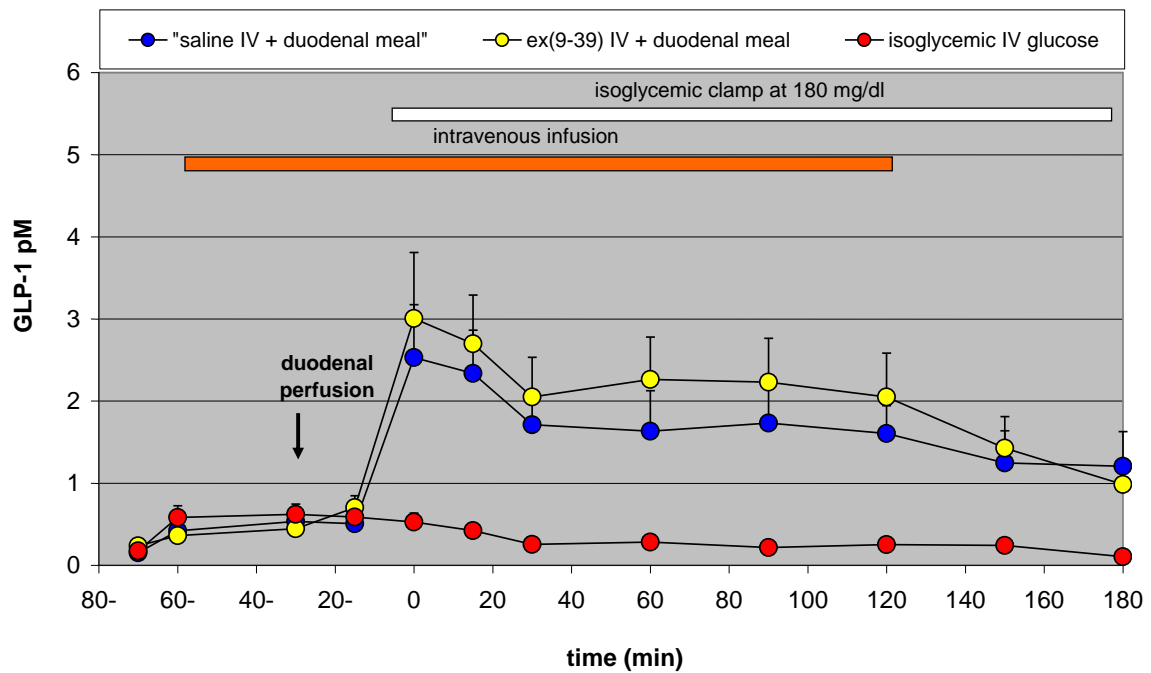
Exendin(9-39) führte am Tag 2 bereits in den ersten 30 Minuten nach Beginn der duodenalen Mahlzeit zu einer geringen fast signifikanten Steigerung der GLP-1 Sekretion bei Gesunden und Diabetikern im Vergleich zur intravenösen Salineinfusion am Tag 1 ($P=0,049$). Dieser Unterschied verstärkte sich während des hyperglykämischen Clamps im Verlauf des Versuchs zu einem deutlich signifikanten Unterschied in der Steady State Phase sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern ($P=0,001$). Die Sekretionssteigerung war sogar bei den Diabetikern deutlich ausgeprägter.

Das Phänomen unter dem GLP-1-Rezeptorantagonist erhöhter GLP-1-Plasmakonzentrationen ist bei Gesunden bekannt und wahrscheinlich das Resultat einer ausbleibenden Autofeedbackhemmung von GLP-1 auf seine Sekretion, bei blockierten Rezeptoren. Bemerkenswert ist, dass dieses Phänomen auch bei Diabetikern identisch vorhanden ist.

Patienten mit T2DM deuteten tendenziell höhere postprandiale GLP-1-Plasmaspiegel als Gesunde, dieser Unterschied war aber statistisch nicht signifikant. In jedem Fall ist die GLP-1-Sekretionsleistung bei T2DM nicht geringer als bei Gesunden.

Die Abbildung 7 zeigt die GLP-1 Plasmakonzentrationen bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

A. GLP-1 healthy subjects



B. GLP-1 T2DM

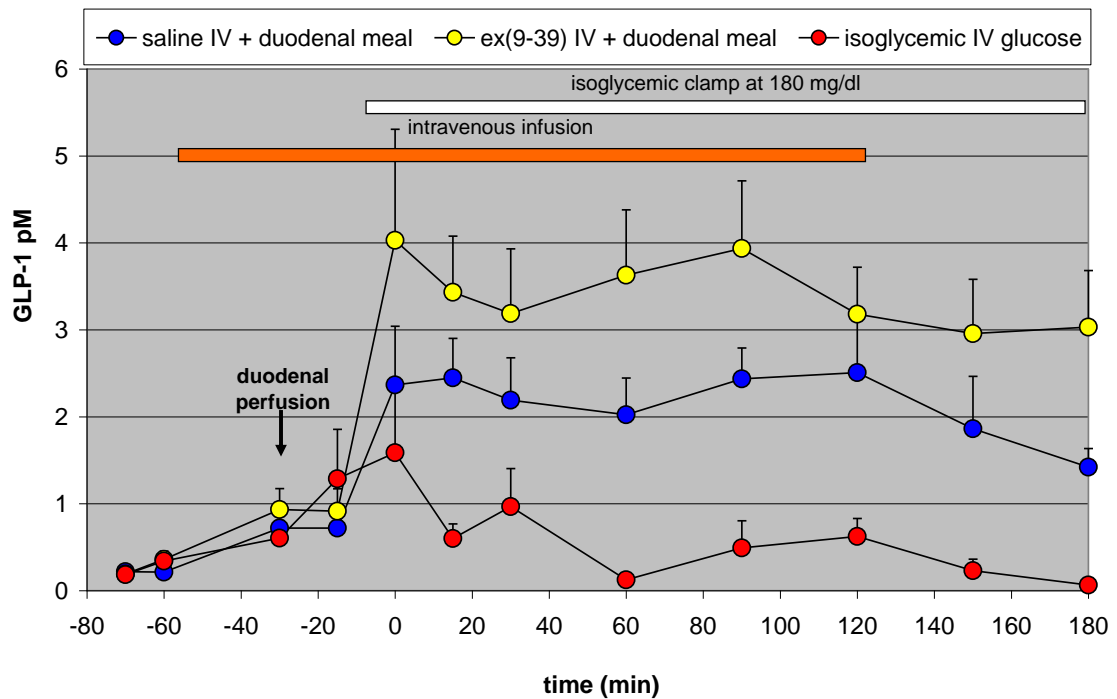


Abbildung 7: GLP-1 Plasmakonzentration in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM.

4.2.2 GIP

Die folgende Tabelle zeigt die Plasmakonzentration von GIP während den entsprechenden Versuchstagen:

	HS			T2DM		
GIP pg/ml			Fasting isoglycemic control			Fasting isoglycemic control
	Duodenal meal		Duodenal saline	Duodenal meal		Duodenal saline
	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv	Saline iv	exendin-9 iv	Saline iv
	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag1	Tag 2	Tag 3
-70 - -60min (basal)	27±4	26±3	26± 2	24±4	26±6	25±3
-60 - -30min (fasting)	23±5	25±3	23±4	24±5	23±6	24±5
-30 - 0min (add duodenal meal)	141±18 §	146±22 §	20±3	166±34 §	221±50 §	23±4
0 - 120min (add hyperglycemic clamp)						
60 – 120 min ng/ml.min über Basal	12.6 ± 1.6 §	12.8 ± 1.8 §	-0.8 ± 0.1	13.8 ± 2.3 §	12.1 ± 1.7 §	-0.5 ± 0.2

Tabelle 9: GIP Plasmakonzentrationen (Mittelwert ± SEM) bei Gesunden (HS) und Diabetiker (T2DM). Die Plasmahormonkonzentrationen von GIP sind vor Beginn des hyperglykämischen Clamps als absolute Werte und nach Beginn des Clamps als über die nüchtern basalen Werte ansteigende AUC berechnet. (2 way RM ANOVA):

***:P<0.05: signifikanter Unterschied verglichen mit intravenöser NaCl 0.9%/duodenaler Mahlzeit;**

§:P<0.05: signifikanter Unterschied verglichen mit dem isoglykämischen Kontrollexperiment

#:P<0.05: signifikanter Unterschied zwischen Diabetikern und Gesunden

GIP hat wie GLP-1 vergleichbare basale Werte in beiden Versuchsgruppen ($P=0,1$).

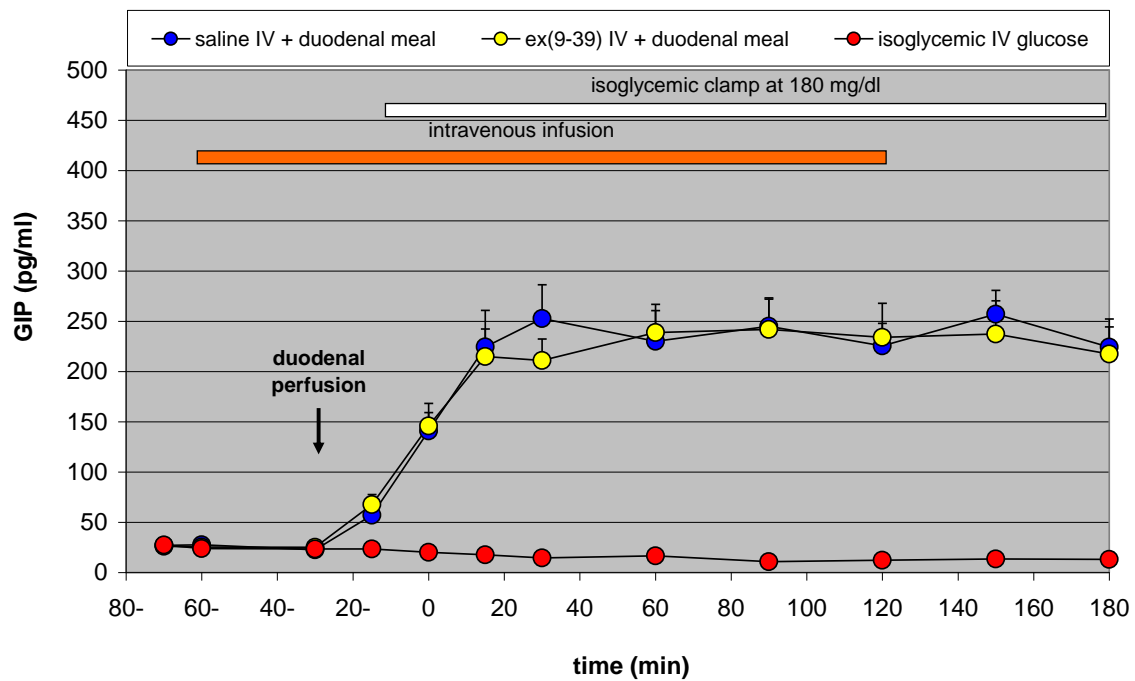
Die duodenale Mahlzeit führte zu einer signifikanten Konzentrationszunahme von GIP bei Gesunden und Diabetikern von Beginn an und im weiteren Verlauf der Versuche ($P<0,001$ in den ersten 30 Minuten und in der Steady State-Phase). Das GIP Sekretionsmuster erreichte in beiden Gruppen ein Maximum ca. 45 Minuten nach Beginn der duodenalen Mahlzeit, gefolgt von einem Steady state während der weiteren Mahlzeitperfusion. In dieser Phase (berechnet in dem Intervall 60-120min) war die GIP Sekretion um das Sechsfache angestiegen im Vergleich zum Nüchternversuch. Diese Steigerung war genau wie bei GLP-1 in beiden Gruppen identisch.

Da Exendin(9-39) ein spezifischer Rezeptorantagonist von GLP-1 ist, führte es erwartungsgemäß zu keiner Änderung des Sekretionsmusters von GIP bei Gesunden und Diabetikern (alle Intervalle $P>0,2$)

Der Anstieg der postprandialen GIP Konzentration war bei Diabetikern und Gesunden nahezu identisch.

Die folgenden Abbildungen beschreiben die GIP Konzentration bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

A. healthy subjects



B. T2DM

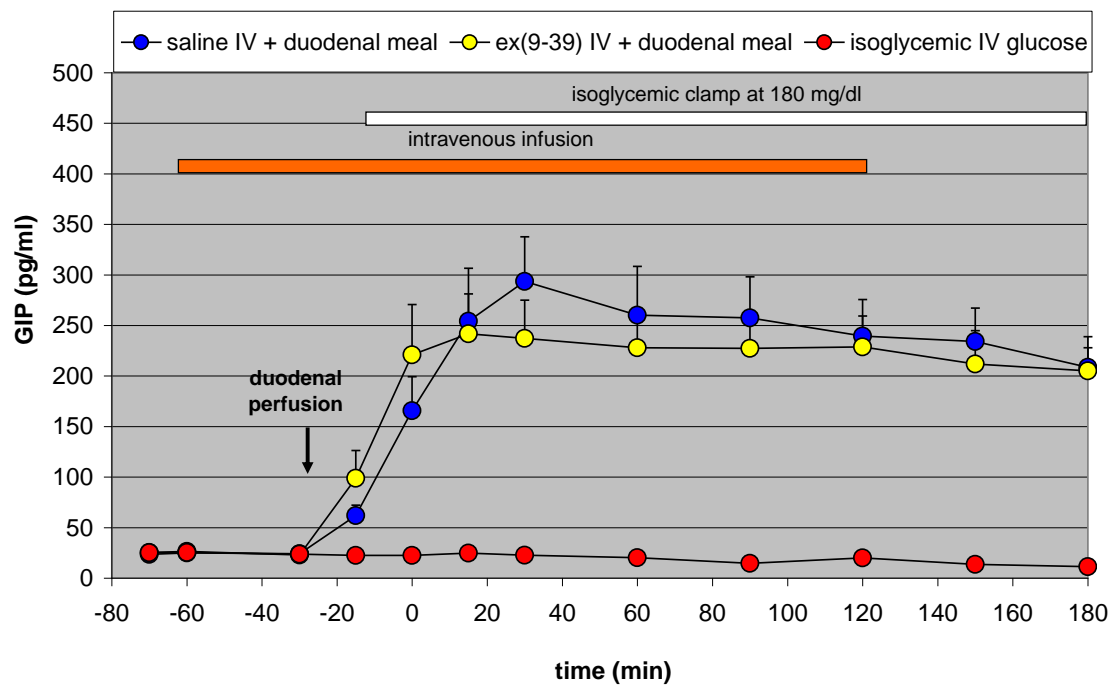


Abbildung 8: GIP Konzentration in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM.

4.3. Antroduodenale Motilität

4.3.1 Antrale Motilität

Die folgenden Tabellen (10-12) beinhalten die Ergebnisse des antralen Motilitätsindex (Tabelle 10), der Kontraktionsfrequenz (Tabelle 11) und Kontraktionsamplitude (Tabelle 12) bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

Tabelle 10: Motilitätsindex im Antrum ((mmHg*s) /10 min interval)

Antrum MI			Fasting isoglycemic control	Statistics (P)					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day 1	exendin-9 iv Day 2	Saline iv Day 3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin on Day 2)									
HS	14.0 ± 1.9	17.7 ± 1.7	13.1 ± 2.0	0.864	0.706	0.055	-	-	-
T2DM	15.1 ± 1.7	14.0 ± 1.9	17.2 ± 2.6						
-30 - 0min (add duodenal meal on Day 1 and 2)									
HS	7.5 ± 1.8§	10.2 ± 1.9	13.8 ± 1.8	0.020	0.322	0.721	0.319	0.020	0.061
T2DM	10.7 ± 1.6§	11.9 ± 1.7	14.7 ± 2.0						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp on all Days)									
HS	28.2 ± 6.4§	43.5 ± 6.8*	57.2 ± 6.8	0.002	0.182	0.829	0.033	0.002	0.113
T2DM	42.7 ± 6.3§	58.0 ± 7.6*	66.5 ± 9.1						
120 - 180min (stop exendin-9 on Day 2)									
HS	13.5 ± 2.9§	20.2 ± 4.2§	35.4 ± 3.2	<0.001	0.336	0.185	0.124	<0.001	0.008
T2DM	22.0 ± 3.5§	29.2 ± 3.9§	33.0 ± 4.7						

Tabelle 10: Antraler Motilitätsindex bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen. Der Motilitätsindex wird als Integral der Kontraktionsaktivität in einer Periode (Fläche unter den Kontraktionen) mit der Einheit mmHg*s/10min definiert und wird als Summe der antralen Kanäle berechnet.

Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodenaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

Tabelle 11: Kontraktionsfrequenz im Antrum (Sum per time interval)

Antrum KF			Fasting isoglycemic control	Statistics					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day 1	exendin- 9 iv Day 2	Saline iv Day 3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin an Day 2)									
HS	15.7 ± 3.3	22.2 ± 3.7	13.5 ± 2.8	0.701	0.342	0.206	-	-	-
T2DM	16.3 ± 3.2	19.2 ± 6.1	25.8 ± 6.1						
-30 - 0min (add duodenal meal on Days 1 and 2)									
HS	6.9 ± 2.5	11.4 ± 3.0	20.5 ± 6.7	0.195	0.664	0.425	-	-	-
T2DM	11.6 ± 2.7	19.1 ± 4.6	18.0 ± 5.4						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp an all Days)									
HS	29.6 ± 8.9§	60.3 ± 12.5*	83.3 ± 26.0	0.009	0.609	0.384	0.024	0.011	0.421
T2DM	39.8 ± 8.0§	90.9 ± 15.8*	96.0 ± 21.5						
120 - 180min (stop exendin-9 on Day 2)									
HS	9.9 ± 3.3§	29.8 ± 12.3	49.7 ± 8.9	0.015	0.979	0.495	0.173	0.013	0.091
T2DM	25.2 ± 6.4§	35.3 ± 6.5	40.6 ± 9.8						

Tabelle 11: Antrale Kontraktionsfrequenz bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen.

Die Kontraktionsfrequenz wird als die Anzahl der Kontraktionen pro 10minütiger Periode definiert und wird als Summe der antralen Kanäle berechnet

Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodенaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

Tabelle 12: Kontraktionsamplitude im Antrum (mmHg)

Antrum KA			Fasting isoglycemic control	Statistics (P)					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day 1	exendin- 9 iv Day 2	Saline iv Day 3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin on Day 2)									
HS	27.7 ± 2.7	48.7 ± 11.4	40.6 ± 7.0	0.068	0.551	0.386	-	-	-
T2DM	31.4 ± 4.4	34.9 ± 8.2	35.3 ± 7.1						
-30 - 0min (add duodenal meal on Days 1 and 2)									
HS	17.1 ± 1.4§	33.5 ± 8.2*	38.9 ± 6.9	0.002	0.438	0.326	0.029	0.002	0.111
T2DM	19.5 ± 2.7§	21.9 ± 2.3*	35.1 ± 3.8						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp on all Days)									
HS	20.5 ± 3.4§	22.6 ± 1.8§	36.7 ± 5.2	<0.001	0.238	0.672	0.248	0.001	0.007
T2DM	20.3 ± 1.4§	29.3 ± 4.9§	47.8 ± 10.5						
120 - 180min (stop exendin-9 on Day 2)									
HS	20.4 ± 1.8§	23.6 ± 2.6§	51.6 ± 8.8	0.002	0.650	0.091	0.152	0.002	0.021
T2DM	21.4 ± 4.9§	31.9 ± 5.3§	34.4 ± 6.2						

Tabelle 12: Antrale Kontraktionsamplitude bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen.

Die Kontraktionsamplitude (mmHg) wird als Mittelwert der antralen Kanäle berechnet

Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodenaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

4.3.1.1 Effekt der duodenalen Mahlzeit auf die antrale Motilität

Die duodenale Mahlzeit hemmte unter den gleichen hyperglykämischen Bedingungen signifikant die antrale Motilität sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern im Vergleich zur isoglykämischen Nüchternversuch. Diese Hemmung war bei Gesunden und Diabetikern gleichermaßen vorhanden und betraf alle Qualitäten der antralen Motilität: Der Motilitätsindex, Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplitude.

Motilitätsindex (HS: $57.2 \pm 6.8 \rightarrow 28.2 \pm 6.4$. T2DM: $66.5 \pm 9.1 \rightarrow 42.7 \pm 6.3$. $P=0,002$)

Kontraktionsfrequenz (HS: $83.3 \pm 26.0 \rightarrow 29.6 \pm 8.9$. T2DM $96.0 \pm 21.5 \rightarrow 39.8 \pm 8.0$. $P=0,011$)

Kontraktionsamplitude (HS: $36.7 \pm 5.2 \rightarrow 20.5 \pm 3.4$. T2DM: $47.8 \pm 10.5 \rightarrow 29.3 \pm 4.9$. $P=0,001$)

In den 30 Minuten der duodenalen Perfusion vor Beginn der hyperglykämischen Clamp deutete die Mahlzeit ihre hemmende Wirkung auf die antrale Motilität durch signifikante Hemmung der Motilitätsindex und Kontraktionsamplitude in beiden Versuchsgruppen im Vergleich zum isoglykämischen Nüchternversuch an. Zwar reduzierte die Nahrung auch die Kontraktionsfrequenz in beiden Gruppen, dies war allerdings nicht signifikant im Vergleich zur Kontrollversuch.

Motilitätsindex (HS: $13.8 \pm 1.8 \rightarrow 7.5 \pm 1.8$ / T2DM: $14.7 \pm 2.0 \rightarrow 10.7 \pm 1.6$. $P=0,020$)

Kontraktionsfrequenz (HS: $20.5 \pm 6.7 \rightarrow 6.9 \pm 2.5$ / T2DM $18.0 \pm 5.4 \rightarrow 11.6 \pm 2.7$. $P=0,195$).

Kontraktionsamplitude (HS: $38.9 \pm 6.9 \rightarrow 17.1 \pm 1.4$ / T2DM $35.1 \pm 3.8 \rightarrow 19.5 \pm 2.7$. $P=0,002$).

4.3.1.2 Effekt von Exendin(9-39) auf die antrale Motilität

Exendin(9-39) steigerte unter hyperglykämischen Bedingungen signifikant die antrale Motilität über den Motilitätsindex und Kontraktionsfrequenz in beiden Versuchsgruppen und ohne einen Unterschied zwischen Gesunden und Diabetikern. Exendin(9-39) hob sogar die signifikante Hemmung der Mahlzeit auf die Motilitätsindex und Kontraktionsfrequenz im Vergleich zur

nüchternen Kontrollversuch bei beiden Gruppen komplett auf. (MI: Sal vs control $P=0,002$, Ex-9 vs control $P=0,113$). (KF: Sal vs control $P=0,011$ Ex-9 vs. control $P=0,42$)

Motilitätsindex (HS: $28.2 \pm 6.4 \rightarrow 43.5 \pm 6.8$, $P=0.003$ / T2DM: $42.7 \pm 6.3 \rightarrow 58.0 \pm 7.6$, $P=0,003$).

Kontraktionsfrequenz (HS: $29.6 \pm 8.9 \rightarrow 60.3 \pm 12.5$ / T2DM: $39.8 \pm 8.0 \rightarrow 90.9 \pm 15.8$, $P=0,024$)

Im Bezug auf die Kontraktionsamplitude bestand interessanterweise sowohl bei den Gesunden als auch bei den Diabetikern kein signifikanter Effekt von Exendin(9-39) während einer Hyperglykämie. ($P=0,248$).

Das Intervall für einen Effekt von Exendin(9-39) auf die Motilität während der Phase der Euglykämie (nach Beginn der Mahlzeit und vor Beginn der hyperglykämischen Clamp) ist mit 30 Minuten relativ kurz um genaue Ergebnisse zu liefern. Trotzdem werden die erhobenen Ergebnissen geschildert, da Exendin auch in dieser kurzen Phase zum Teil eine Wirkung zeigt. Vor dem hyperglykämischen Clamp führte Exendin(9-39) unter euglykämischen Bedingungen zu einer geringen Steigerung der antralen Motilitätsindex und Kontraktionsfrequenz bei Gesunden und Diabetikern. Obwohl diese Steigerung im Vergleich zur intravenösen Saline-Infusion nicht signifikant war ($P=0,319$), war sie für den Motilitätsindex aber ausreichend, um die signifikante Hemmung durch die duodenale Mahlzeit im Vergleich zum isoglykämischen Nüchternversuch aufzuheben. (Sal vs. Control $P=0,02$, Ex-9 vs. Control $P=0,061$). Interessanterweise erhöhte Exendin(9-39) signifikant die antrale Kontraktionsamplitude unter euglykämischen Bedingungen im Vergleich zur Saline-Infusion ($P=0,029$), anders als während des hyperglykämischen Clamps. Die Amplitude stieg bei den Gesunden ($17.1 \pm 1.4 \rightarrow 33.5 \pm 8.2$) und bei den Diabetikern ($19.5 \pm 2.7 \rightarrow 21.9 \pm 2.3$) an.

Nach Sistieren der Exendin(9-39)-Infusion ab der Minute 120 kehrte der signifikante Unterschied zwischen der Mahlzeit und dem Kontrollversuch im Hinblick auf die Motilitätsindex und Kontraktionsamplitude sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern wieder zurück (MI: $P=0,008$ / KA: $0,021$ Ex-9 vs control, nach Ex-9 Ende), allerdings war es bei der Kontraktionsfrequenz nicht signifikant (KF: $P=0,091$ Ex-9 vs control, nach Ex-9 Ende). Ebenfalls bestand nach Ende der Exendin(9-39)-Infusion kein Unterschied mehr zwischen den Versuchstagen 1 und 2 mit der duodenalen Mahlzeit und unterschiedlichen intravenösen

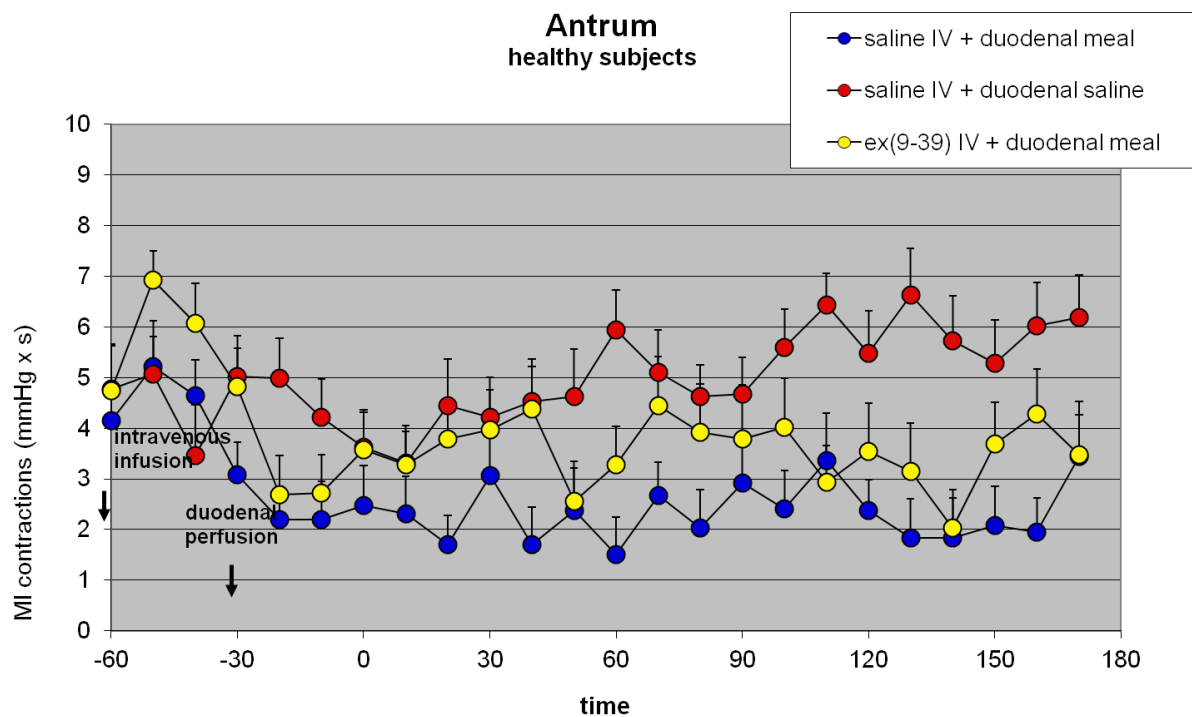
Infusionen bezüglich aller antralen Motilitätsqualitäten. (MI: $P=0,124$ / KF: $P= 0,173$ / KA: $0,152$ Sal vs Ex-9 nach Ende Ex-9 ab der Minute 120)

4.3.1.3 Fazit der antralen Motilität

- a. Unter sonst gleichen Bedingungen (Mahlzeit, Glykämie) gibt es keinen Unterschied der antralen Motilität zwischen T2DM und Gesunden.
- b. Die duodenale Mahlzeit hemmt in beiden Gruppen die antrale Motilität durch Hemmung des Motilitätsindex, der Kontraktionsfrequenz und der Kontraktionsamplitude sowohl während Euglykämie als auch Hyperglykämie.
- c. Exendin 9-39 stimuliert unter gleichen hyperglykämischen Bedingungen signifikant den postprandialen antralen Motilitätsindex und die Kontraktionsfrequenz sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern und deutet diese schon in der euglykämischen Phase an.
- d. Exendin 9-39 stimuliert signifikant die postprandiale Amplitude der antralen Kontraktionen in der euglykämischen Phase bei Gesunden und Patienten mit T2DM und verliert diesen Effekt unter Hyperglykämie.

Die folgenden Abbildungen 9, 10 und 11 zeigen den zeitlichen Verlauf der antralen Motilitätsparameter (Motilitätsindex, Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplitude) bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen

A. healthy subjects



B. T2DM

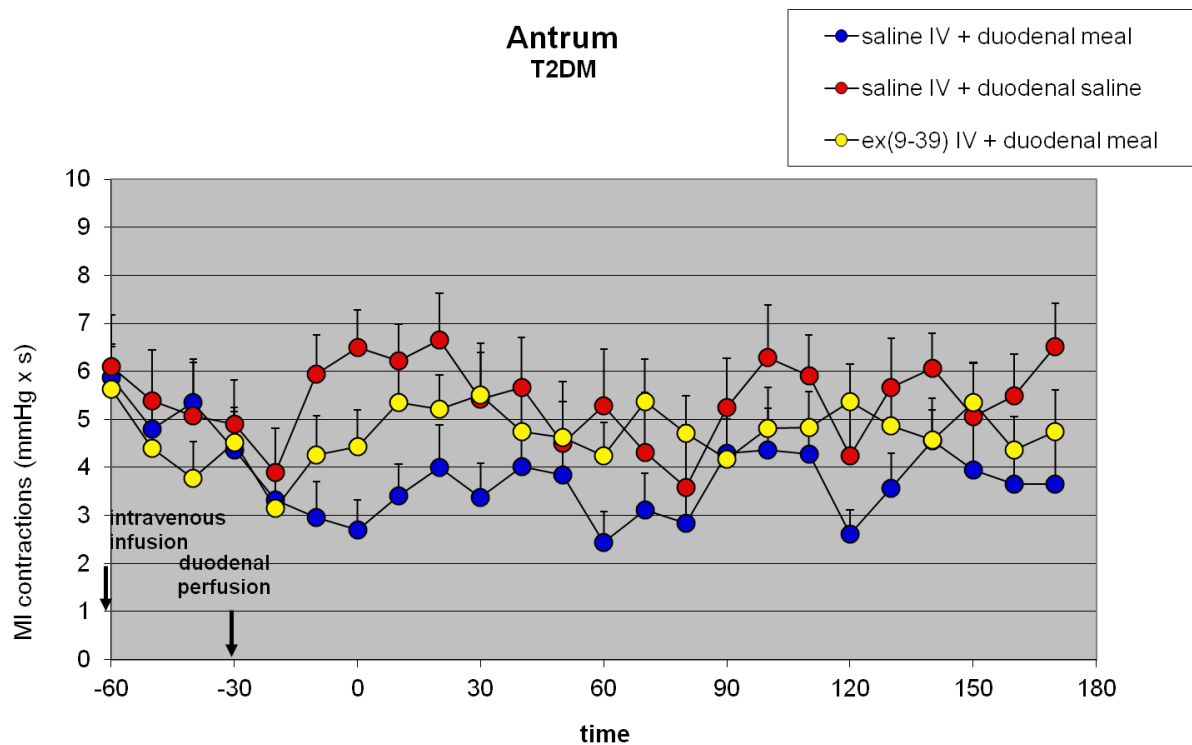
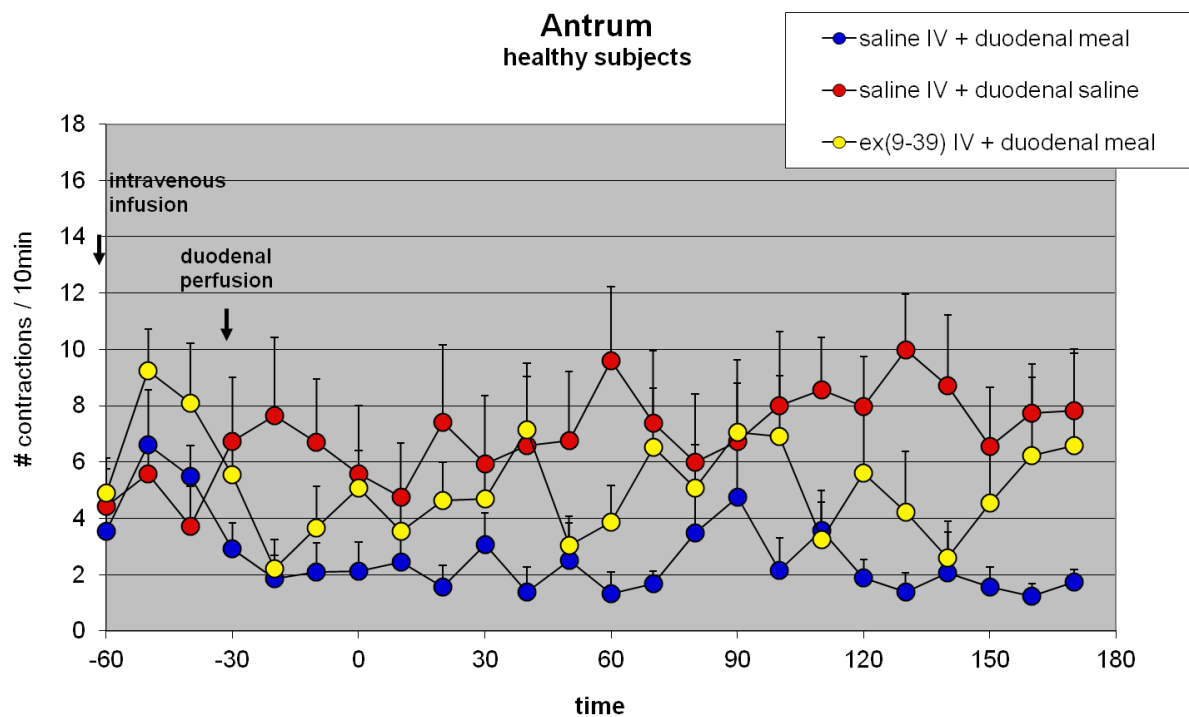


Abbildung 9: Antraler Motilitätsindex in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

A. healthy subjects



B. T2DM

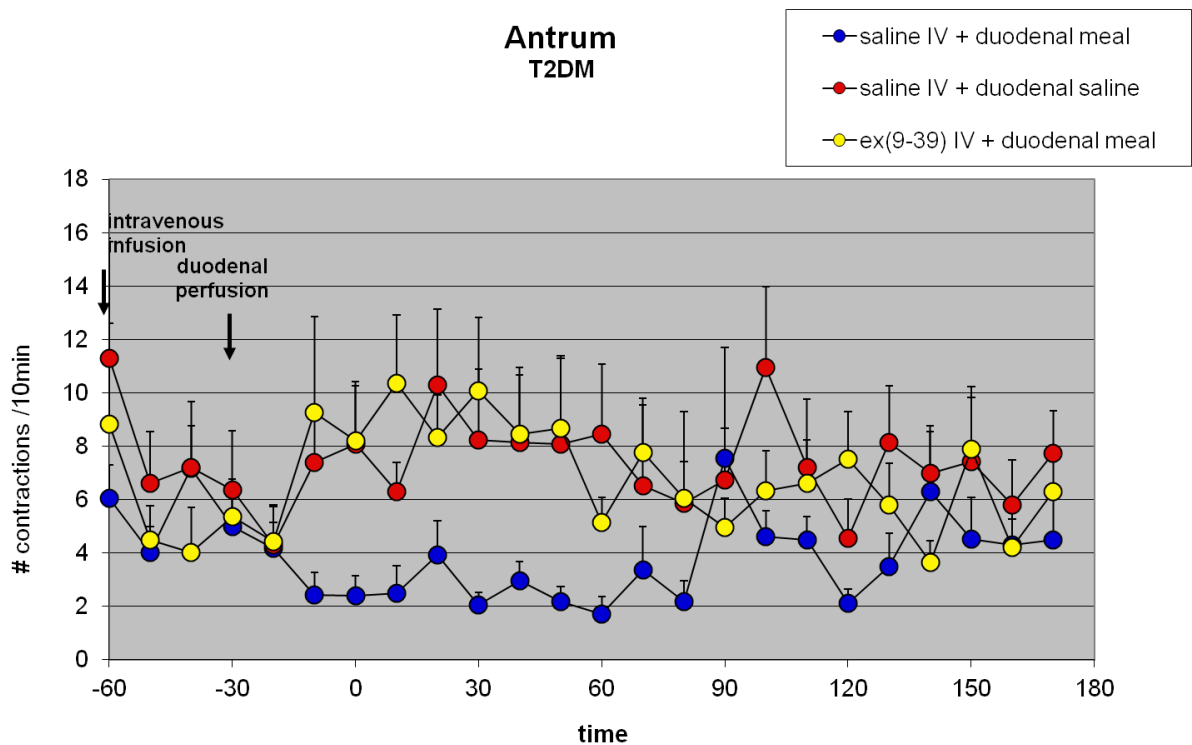
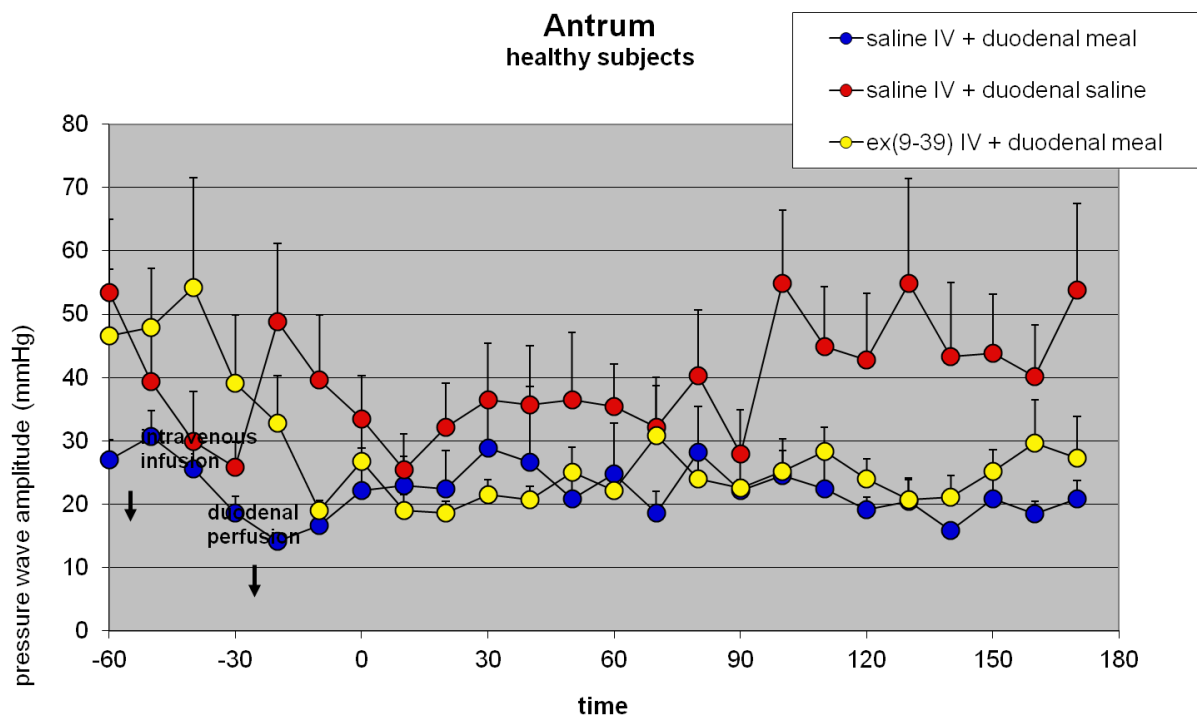


Abbildung 10: Antraler Kontraktionsfrequenz in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

A. healthy subjects



B. T2DM

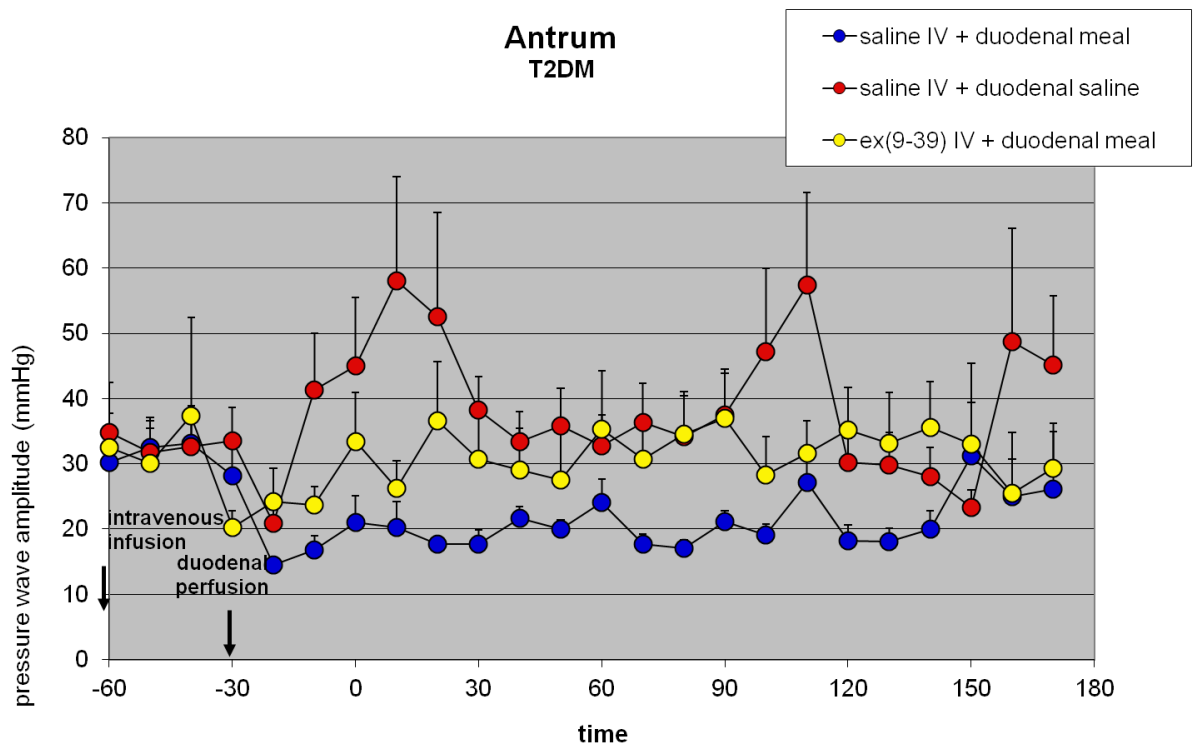


Abbildung 11: Antrale Kontraktionsamplitude in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

4.3.2 Duodenale Motilität

Die folgenden Tabellen (13-15) beinhalten die Ergebnisse des duodenalen Motilitätsindex, der Kontraktionsfrequenz und der Kontraktionsamplitude bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

Tabelle 13: Motilitätsindex im Duodenum ((mmHg*s) /10 min interval)

Duodenum MI			Fasting isoglycemic control	Statistics (P)					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day 1	exendin- 9 iv Day2	Saline iv Day3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin on day 2)									
HS	22.9 ± 1.8	24.9 ± 1.3	22.4 ± 1.2	0.783	0.392	0.392	-	-	-
T2DM	21.6 ± 2.0	21.3 ± 1.7	22.3 ± 2.1						
-30 - 0min (add duodenal meal on day 1 and 2)									
HS	16.5 ± 2.3§	18.6 ± 1.6	22.9 ± 0.9	0.024	0.266	0.512	0.219	0.018	0.118
T2DM	15.5 ± 2.3§	17.1 ± 2.0	18.3 ± 2.3						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp on all days)									
HS	57.9 ± 8.1§	70.5 ± 7.3*§	92.3 ± 2.9	<0.001	0.348	0.279	0.004	<0.001	0.026
T2DM	63.9 ± 6.9§	85.6 ± 6.2*§	89.4 ± 5.7						
120 - 180min (stop exendin-9 on day 2)									
HS	29.1 ± 4.4§	33.7 ± 4.9§	48.7 ± 1.9	<0.001	0.311	0.007	0.254	<0.001	<0.001
T2DM	35.3 ± 3.2	45.2 ± 2.8*	40.9 ± 3.9				0.048	0.115	0.406

Tabelle 13: Duodener Motilitätsindex bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen. Der Motilitätsindex wird als Integral der Kontraktionsaktivität in einer Periode mit der Einheit mmHg*s/10min definiert und wird als Summe der duodenalen Kanäle berechnet.

Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodener Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

Tabelle 14: Kontraktionsfrequenz im Duodenum (Sum per time interval)

Duodenum KF			Fasting isoglycemic control	Statistics					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day1	exendin- 9 iv Day2	Saline iv Day3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin on day2)									
HS	46.6 ± 6.6	58.8 ± 7.5	41.4 ± 7.0	0.624	0.946	0.225	-	-	-
T2DM	47.8 ± 8.0	47.3 ± 11.4	53.8 ± 11.5						
-30 - 0min (add duodenal meal on day 1 and 2)									
HS	28.4 ± 7.6	35.6 ± 6.6	47.0 ± 5.7	0.238	0.436	0.302	-	-	-
T2DM	32.2 ± 8.2	28.9 ± 6.4	32.8 ± 6.5						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp on all days)									
HS	86.8 ± 17.4§	108.2 ± 16.7*§	185.8 ± 16.8	<0.001	0.483	0.253	0.031	<0.001	0.038
T2DM	90.8 ± 17.8§	161.3 ± 33.3*§	169.4 ± 23.5						
120 - 180min (stop exendin-9 on day 2)									
HS	32.9 ± 6.2§	49.8 ± 10.0§	116.4 ± 13.8	<0.001	0.597	0.004	0.305	<0.001	<0.001
T2DM	55.8 ± 12.5	87.8 ± 12.4	77.3 ± 14.3				0.135	0.194	0.527

Tabelle 14: Duodenale Kontraktionsfrequenz bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen. Die Kontraktionsfrequenz wird als die Anzahl der Kontraktionen pro 10minütiger Periode definiert und wird als Summe der duodenalen Kanäle berechnet Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodenaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

Tabelle 15: Kontraktionsamplitude im Duodenum (mmHg)

Duodenum KA			Fasting isoglycemic control	Statistics (P)					
	Duodenal meal		Duodenal saline	Two way repeated measures ANOVA			SNK post hoc test		
	Saline iv Day1	exendin- 9 iv Day2	Saline iv Day3	iv infusion	diabetic state	interaction	Sal vs Ex-9	Sal vs control	Ex-9 vs control
-60 - -30min (fasting, add Exendin on day2)									
HS	29.7 ± 2.1	28.8 ± 3.4	28.4 ± 2.4	0.589	0.920	0.337	-	-	-
T2DM	26.8 ± 2.7	27.4 ± 1.6	31.8 ± 3.3						
-30 - 0min (add duodenal meal on day 1 and 2)									
HS	21.0 ± 2.2	24.0 ± 2.0	23.4 ± 1.4	0.143	0.591	0.454	-	-	-
T2DM	19.8 ± 1.3	20.4 ± 1.2	24.7 ± 3.6						
0 - 120min (add hyperglycemic clamp on all days)									
HS	21.3 ± 1.8§	24.4 ± 2.0*	25.0 ± 2.0	0.005	0.273	0.606	0.045	0.004	0.188
T2DM	23.4 ± 2.0§	26.2 ± 2.2*	29.4 ± 2.4						
120 - 180min (stop exendin-9 on day 2)									
HS	23.1 ± 3.6	23.1 ± 2.6	28.3 ± 2.1	0.584	0.468	0.021	0.991	0.158	0.069
T2DM	26.1 ± 1.8	30.0 ± 3.1	23.9 ± 1.6				0.170	0.438	0.086

Tabelle 15: Duodenale Kontraktionsamplitude bei Gesunden und Diabetiker an allen Versuchstagen. Die Kontraktionsamplitude (mmHg) wird als Mittelwert der duodenalen Kanäle berechnet

Mittelwert ± SEM während der Versuche bei 12 Gesunden und 12 Patienten mit T2DM.

2 way RM ANOVA und SNK post hoc test

***:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen NaCl 0.9% und Ex-9 nach Berücksichtigung von Effekten des Diabetes-Status**

#:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen T2DM und Gesunden nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion.

§:P<0.05: signifikante Unterschiede zwischen duodенaler Mahlzeit und duodenalem NaCl 0.9% nach Berücksichtigung von Effekten der intravenösen Infusion

4.3.2.1 Effekt der duodenale Mahlzeit auf die duodenale Motilität

Ähnlich wie im Antrum führt die duodenal perfundierte Mahlzeit unter den gleich hyperglykämischen Bedingungen sowohl bei Gesunden als auch bei den Diabetikern zu einer signifikanten Hemmung der duodenalen Motilität. Diese Hemmung bestand im Fall der Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplitude über der kompletten Versuchsdauer von 180 Minuten nach Beginn der hyperglykämischen Clamp. Im Fall der duodenalen Motilitätsindex war diese Hemmung in beiden Versuchsgruppen bis zur Minute 120 nach Beginn der Clamp signifikant vorhanden ($P < 0,001$). Nur in der letzten Stunde des Versuchs (Minute 120- 180) war in der Diabetikergruppe im Gegensatz zu den Gesunden der Unterschied des Motilitätsindex durch die perfundierte Mahlzeit im Vergleich zum isoglykämischen Kontrollversuch nicht mehr signifikant ($P=0,115$ Sal vs control bei T2DM, Minute 120-180). Die Hemmung der duodenalen Motilität unter hyperglykämischen Bedingungen (Minute 0-120) zeigte sich wie folgt (Sal vs control):

Motilitätsindex (HS: $92.3 \pm 2.9 \rightarrow 57.9 \pm 8.1$ / T2DM $89.4 \pm 5.7 \rightarrow 63.9 \pm 6.9$. $P < 0,001$)

Kontraktionsfrequenz (HS $185.8 \pm 16.8 \rightarrow 86.8 \pm 17.4$ / T2DM $169.4 \pm 23.5 \rightarrow 90.8 \pm 17.8$. $P < 0,001$)

Kontraktionsamplitude (HS $25.0 \pm 2.0 \rightarrow 21.3 \pm 1.8$ / T2DM $29.4 \pm 2.4 \rightarrow 23.4 \pm 2.0$. $P=0,004$)

Unter euglykämischen Bedingungen in der ersten 30 Minuten der Mahlzeitperfusion zeigte die Mahlzeit nur eine signifikante Hemmung auf den Motilitätsindex in beiden Versuchsgruppen ($P=0,018$ Sal vs control). Auf die Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplitude bestand kein signifikanter Effekt sowohl bei der Gesunden als auch bei Diabetiker ($P=0,143$).

Motilitätsindex (HS: $22.9 \pm 0.9 \rightarrow 16.5 \pm 2.3$ / T2DM $18.3 \pm 2.3 \rightarrow 15.5 \pm 2.3$. $P=0,018$ Sal vs control).

4.3.2.2 Effekt von Exendin auf die duodenale Motilität

Während isoglykämischer Hyperglykämie steigerte Exendin(9-39) in beiden Versuchsgruppen alle Qualitäten der duodenalen Motilität, nämlich den Motilitätsindex, die

Kontraktionsfrequenz und die Kontraktionsamplitude im Vergleich zur intravenösen Salineinfusion. Diese Stimulation der Motilität war bei den Gesunden und Diabetiker gleichermaßen vorhanden ohne einen Unterschied. Während der Hyperglykämie reagierten die Motilitätsparameter wie folgt (Sal vs Ex-9):

Motilitätsindex (HS: $57.9 \pm 8.1 \rightarrow 70.5 \pm 7.3$ / T2DM: $63.9 \pm 6.9 \rightarrow 85.6 \pm 6.2$. $P=0.004$)

Kontraktionsfrequenz (HS: $86.8 \pm 17.4 \rightarrow 108.2 \pm 16.7$ / T2DM: $90.8 \pm 17.8 \rightarrow 161.3 \pm 33.3$. $P=0,031$)

Kontraktionsamplitude (HS: $21.3 \pm 1.8 \rightarrow 24.4 \pm 2.0$ / T2DM: $23.4 \pm 2.0 \rightarrow 26.2 \pm 2.2$. $P=0,045$)

Vor Beginn des hyperglykämischen Clamp zeigte Exendin(9-39) in der kurzen Zeit der Euglykämie (Minute -30 zur Minute 0) keinen signifikanten Effekt auf die duodenale Motilität. Obwohl eine gewisse Steigerung der duodenalen Motilitätsindex durch Exendin(9-39) im Vergleich zur intravenösen Saline-Infusion nicht signifikant war ($P=0,219$), war sie aber ausreichend, um den signifikanten Unterschied der duodenalen Mahlzeit im Vergleich zum isoglykämischen Nüchternversuch aufzuheben. (Sal vs. Control $P=0,018$, Ex-9 vs. Control $P=0,118$, Minute -30 - 0). Interessant ist die Beobachtung, dass im Fall der duodenalen Kontraktionsfrequenz und Amplitude während der 30 minütigen Euglykämie die Mahlzeit mit und ohne Exendin(9-39) keinen Effekt gezeigt hat. Wenn die perfundierte Mahlzeit während der euglykämischen Phase von 30 Minuten einen Effekt auf die Motilitätsindex zeigte, konnte Exendin(9-39) ebenfalls einen gewissen Effekt zeigen.

Nach dem Stoppen der Exendin(9-39)-Infusion ab der Minute 120 kehrte der signifikante Unterschied zwischen den Exendin- und Saline-Infusionen auf die duodenalen Motilität zurück. Im Bezug auf der duodenalen Kontraktionsfrequenz und Amplitude bestand in beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den Versuchstagen mit der Mahlzeitperfusion. Bei dem Motilitätsindex bei Gesunden hat sich der Exendin(9-39)-Effekt nach seinem Stopp komplett zurückgebildet ($P= 0,254$ Sal vs Ex-9 bei HS, Minute 120-180). Bei den Diabetikern ist der Motilitätsindex nach dem Ende der Exendin(9-39)-Infusion gesunken, allerdings blieb ein gerade noch signifikanter Unterschied zu dem Versuch mit der Salineinfusion ($P=0,048$ Sal vs Ex-9 bei T2DM, Minute 120-180). Allerdings war in dieser Phase bei den Diabetiker wie vorher beschrieben kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den Versuche mit der

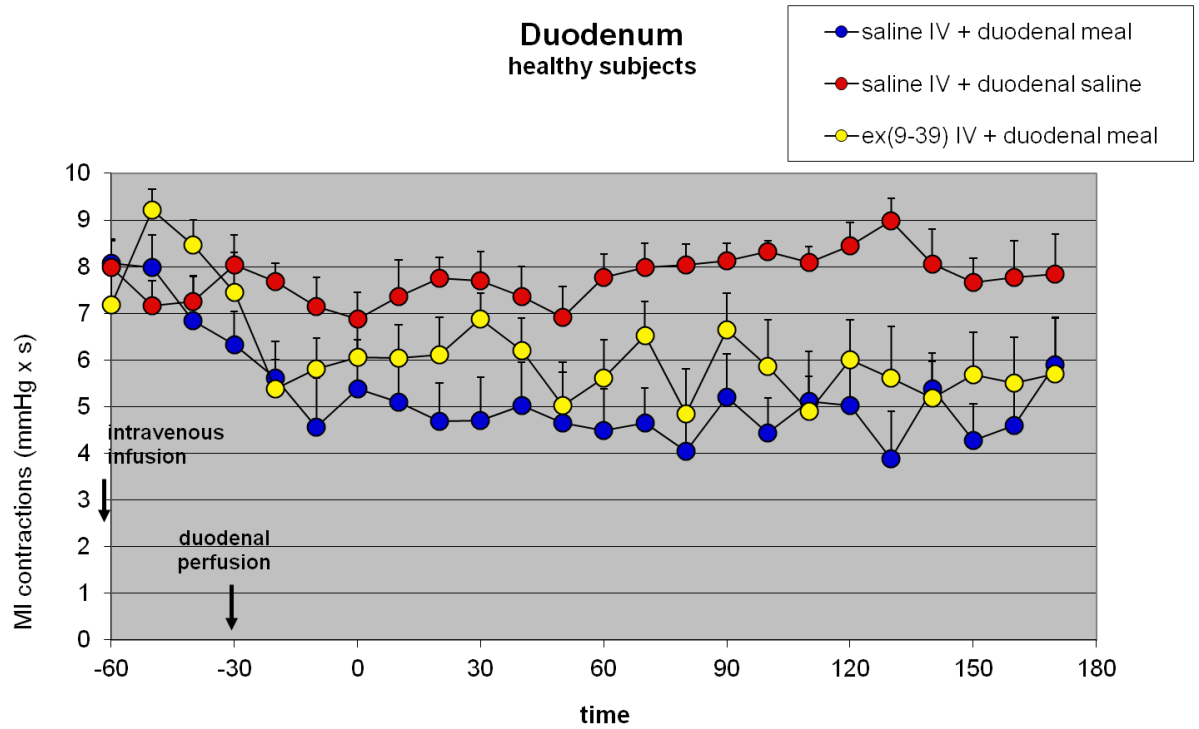
Mahlzeit (mit oder ohne Exendin(9-39)) und der isoglykämischen Kontrollversuch im Bezug auf der Motilitätsindex zu messen.

4.3.2.3 Fazit der duodenalen Motilität

- a. Unter sonst gleichen Bedingungen (Mahlzeit, Glykämie) gibt es keinen Unterschied der duodenalen Motilität zwischen Gesunden und T2DM.
- b. Die duodenale Mahlzeit hemmt in beiden Gruppen die duodenale Motilität durch Hemmung des Motilitätsindex, der Kontraktionsfrequenz und der Kontraktionsamplitude während der gleichen Hyperglykämie und durch Hemmung des Motilitätsindex während der Euglykämie.
- c. Exendin 9-39 stimuliert unter gleichen hyperglykämischen Bedingungen signifikant den postprandialen duodenalen Motilitätsindex, die Kontraktionsfrequenz und die Kontraktionsamplitude sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern.
- d. Exendin 9-39 zeigt keinen signifikanten Effekt auf die postprandiale duodenale Motilität (MI, KF und KA) in der euglykämischen Phase bei Gesunden und Patienten mit T2DM.

Die folgenden Abbildungen 12, 13 und 14 zeigen den zeitlichen Verlauf der duodenalen Motilitätsparameter (Motilitätsindex, Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplitude) bei Gesunden und Diabetikern an allen Versuchstagen:

A. healthy subjects



B. T2DM

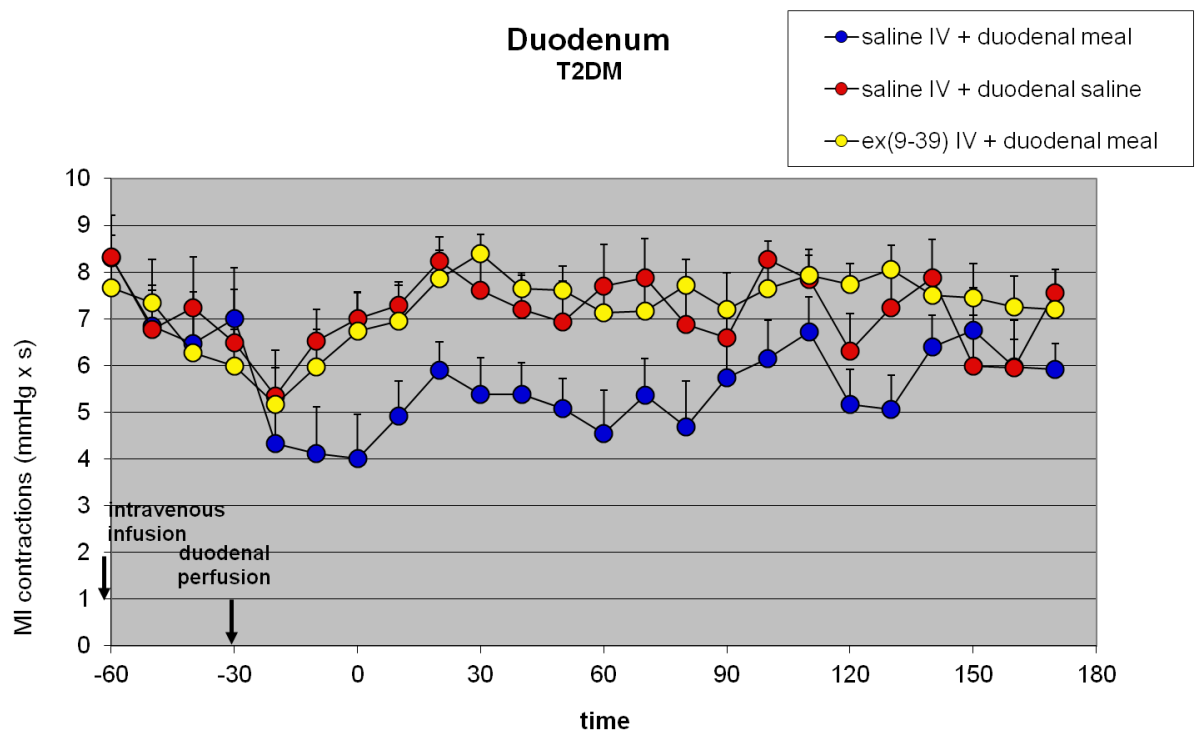
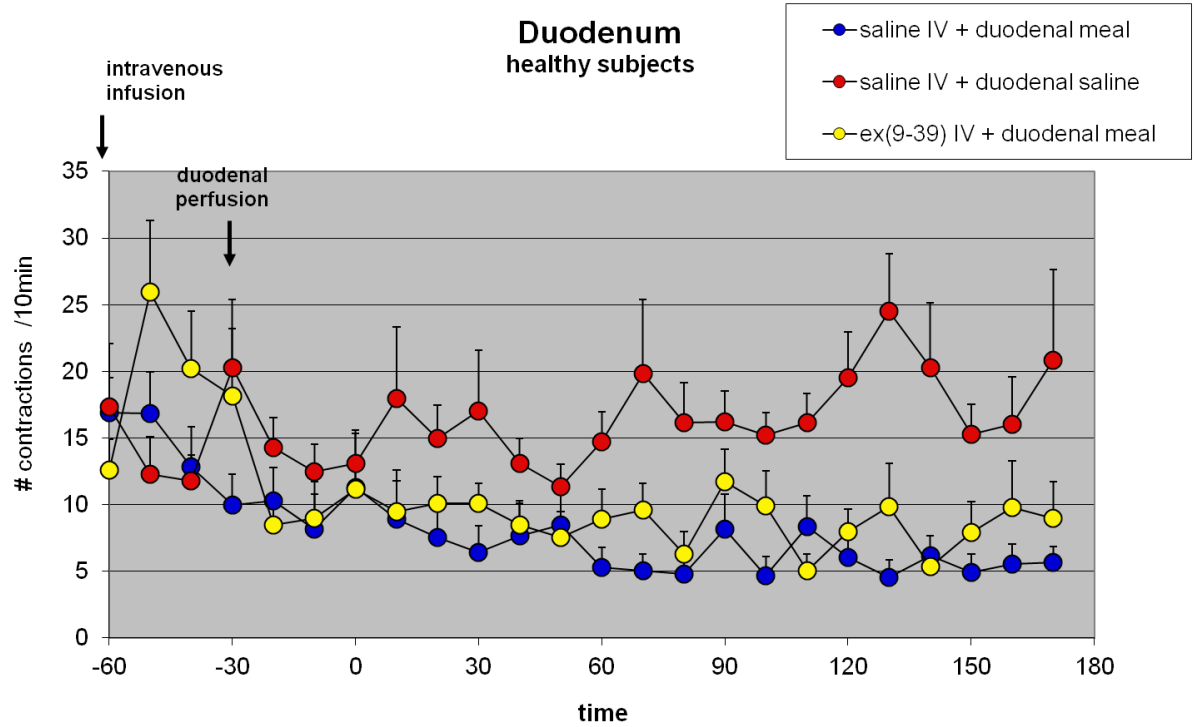


Abbildung 12: Duodener Motilitätsindex in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

A. healthy subjects



B. T2DM

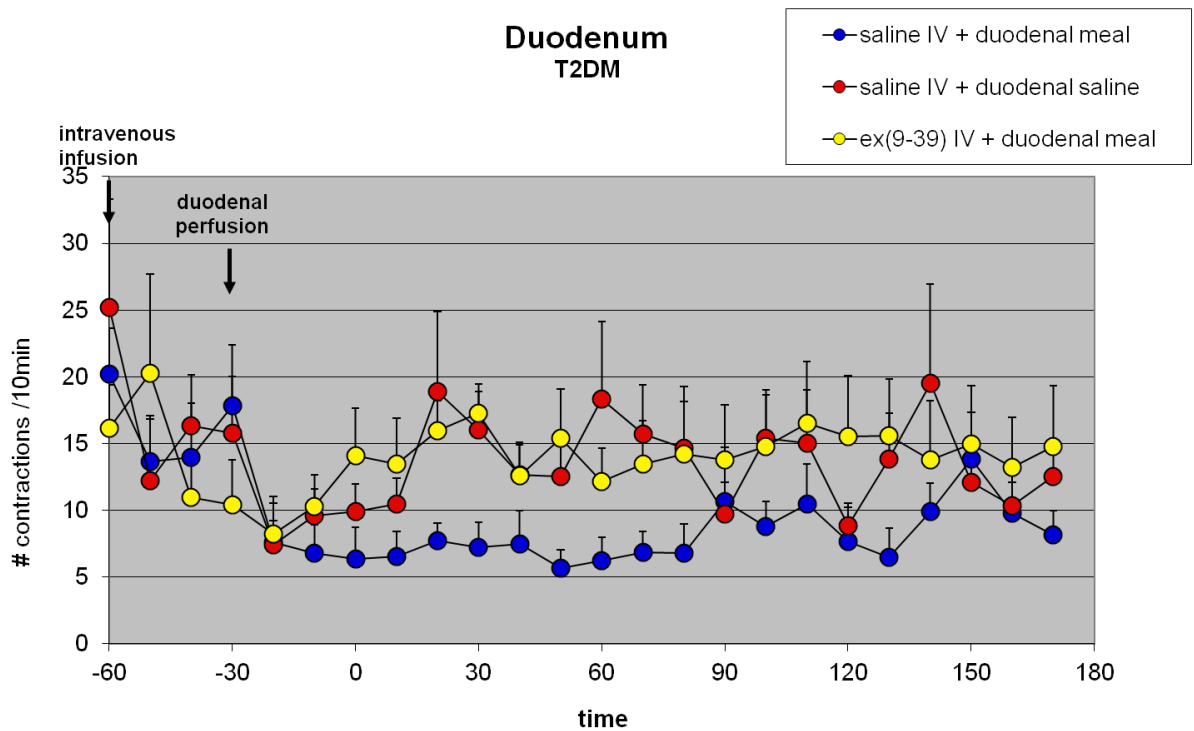
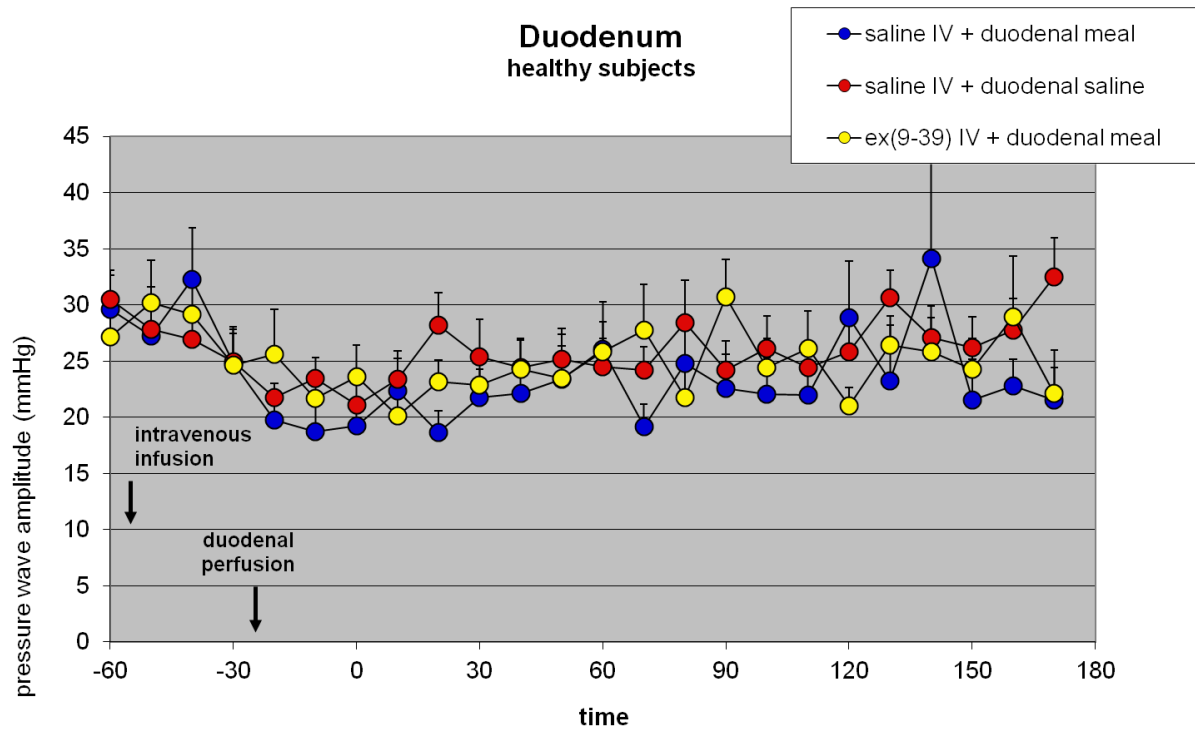


Abbildung 13: Duodener Kontraktionsfrequenz in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

A. healthy subjects



B. T2DM

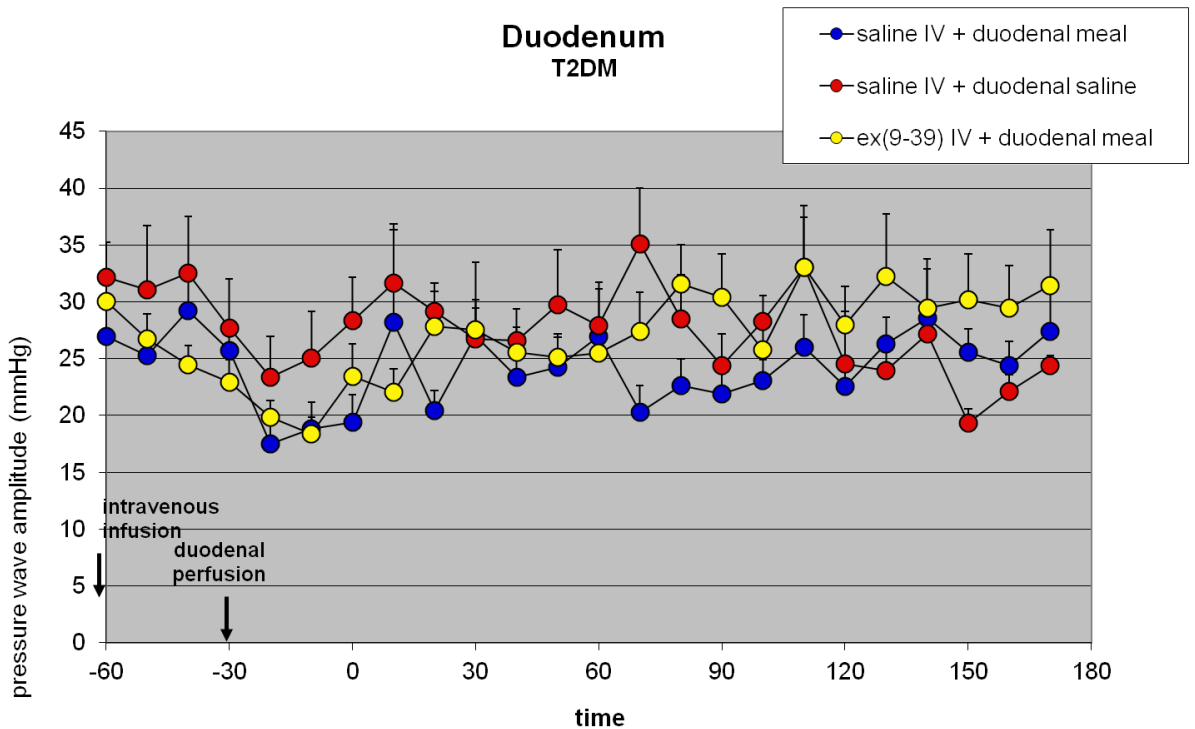


Abbildung 14: Duodener Kontraktionsamplitude in 12 gesunden Probanden (A) und 12 Patienten mit T2DM (B), Mittelwert \pm SEM

5. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit können wie folgt zusammengefasst werden:

1. unter sonst gleichen Bedingungen (Mahlzeit, Glykämie) gibt es keinen Unterschied zwischen therapeutisch gut eingestellten T2DM und Gesunden bezüglich der antroduodenalen Motilität: die duodenale Mahlzeit hemmt die antroduodenale Motilität über den Motilitätsindex, die Kontraktionsfrequenz und die Amplitude.
2. Sowohl bei T2DM als auch bei Gesunden ist diese Hemmung partiell durch endogenes GLP-1 vermittelt (im Antrum über Motilitätsindex und Frequenz, im Duodenum auch über Amplitude).

5.1. Postprandiale Sekretion von Inkretinhormonen bei Gesunden und Diabetikern

Wie erwartet führte in dieser Studie die Hyperglykämie allein ohne duodenale Mahlzeitperfusion zu keinem Anstieg der Inkretinhormon-Plasmakonzentration. Die duodenale Mahlzeitperfusion führte hingegen zu einem prompten und schnellen Anstieg der Plasmakonzentrationen von GLP-1 und GIP. Es konnte zwischen gesunden Probanden und Diabetikern kein signifikanter Unterschied dieser Plasmakonzentrationen nachgewiesen werden, wenn auch die Werte für GLP-1 bei den Diabetikern in der späten Phase der duodenalen Nährstoffperfusion tendenziell höher waren als bei den Gesunden. Es ergibt sich somit kein Anhalt für ein Sekretionsdefizit von GLP-1 oder GIP bei Patienten mit T2DM.

Bezüglich der GLP-1- und GIP-Plasmakonzentrationen im hyperglykämischen Zustand bei Gesunden und Diabetikern finden sich in der Literatur sehr widersprüchliche Aussagen: Kuo et al. berichten bei gesunden Probanden unter Hyperglykämie höhere Plasmakonzentrationen von GIP bei unverändertem GLP-1 (10). Andere Autoren fanden aber auch einen Rückgang sowohl von GLP-1 als auch von GIP nach Einstellen eines hyperglykämischen Zustands (70). Und eine dritte Gruppe von Studien stellte fest, dass sich die GIP-Konzentrationen bei Diabetikern nach Ernährung im hyperglykämischen Zustand erhöht (71;72). In früheren Studien waren beim T2DM postprandiale GIP-Plasmakonzentrationen erhöht, normal und erniedrigt gefunden worden (19;73). Insgesamt aber unter Betrachtung aller Daten scheint die GIP-Sekretion bei Diabetikern weitgehend unverändert zu sein.

GLP-1-Plasmaspiegel wurden in mehreren Studien beim T2DM vermindert gefunden (18;19;74), in anderen aber nicht (72;73;75). Wenn GLP-1-Plasmakonzentrationen bei Diabetikern erniedrigt waren, fand sich dies 2-3 Stunden nach Nahrungsaufnahme, aber nie unmittelbar postprandial, und korrelierte nicht mit dem typischen frühpostprandialen Insulinsekretionsdefizit der Patienten mit T2DM. Unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich der Ausschüttung von Inkretinhormonen lassen sich vermutlich vor allem auf methodische Unterschiede bei den einzelnen Studien zurückführen. Aus diesem Grund sind ältere Veröffentlichungen allein aufgrund der Weiterentwicklung der Mess- und Analysetechnik mit neueren Daten nicht unbedingt vergleichbar. In der aktuellen Arbeit wurde bioaktives GLP-1 gemessen. Wichtiger erscheint jedoch, dass postprandiale GLP-1-Plasmakonzentrationen zwischen Individuen hoch variabel zu sein scheinen, wobei die Mittelwerte in den meisten Arbeiten bei Patienten mit T2DM relativ normal sind (75). Ein wesentlicher Faktor könnte dabei die Magenentleerungsgeschwindigkeit sein. Die Sekretion des GLP-1 ist direkt abhängig von der Menge und der Geschwindigkeit, mit der Nährstoffe (Kohlenhydrate und Fett) aus dem Magen ins Duodenum entleert werden (17;22). GLP-1 wird z.B. unterhalb einer Kohlenhydratentleerung von etwa 1.2 kcal/min nicht mehr freigesetzt (22). Die Magenentleerungsgeschwindigkeit ist zum einen individuell variabel und wird zum anderen beeinflusst durch eine präexistente Hyperglykämie. Hyperglykämie übt eine stark hemmende Wirkung auf die Magenentleerung aus (5;11). Da die oben genannten Studien bei Diabetikern eine orale Mahlzeit benutzten, die während Nüchternhyperglykämie verabreicht wurde und gefolgt war von einer (unkontrollierten) postprandialen Hyperglykämie, muss damit gerechnet werden, dass eine verminderte postprandiale Freisetzung gerade von GLP-1 schlicht Folge war einer im Vergleich zu den Gesunden verzögerten Magenentleerung, wie ebenfalls in der Studie von Chiu YC et al zu sehen ist (76). Effekte der Magenentleerung wurden in vorliegender Arbeit durch die duodenale Nährstoffperfusion bewusst vermieden, um gleiche Bedingungen für die Sekretion der Inkretinhormone zu schaffen. Unter diesen Bedingungen waren die postprandialen Plasmakonzentrationen von GLP-1 und GIP bei den Diabetikern nicht unterschiedlich zu den Gesunden. Das erklärt auch, warum die hier vorgestellten Ergebnisse mit anderen Daten, die auf ähnliche Weise gewonnen wurden, gut korrelieren (10). In der Studie von Salehi wurde die orale Mahlzeit bei Gesunden und T2DM nach vorheriger Etablierung einer Hyperglykämie verabreicht (72). Die Magenentleerung wurde parallel zur Messung der Inkretinplasmaspiegel mit dem D-Xylose-Test gemessen. Unter diesen Bedingungen - Hyperglykämie bei Gesunden und Diabetikern - unterschied sich die Magenentleerungsgeschwindigkeit nicht und auch die postprandialen Inkretinhormonplasmaspiegel waren nahezu identisch bei Gesunden und Patienten mit T2DM.

Die GLP-1-Rezeptorblockade mit Exendin(9-39) führte sowohl bei Gesunden als auch bei den Diabetikern zu einer erheblichen Steigerung der GLP-1-Plasmakonzentrationen. Der Anstieg betrug bei den Gesunden 36%, bei den Diabetikern sogar 60%. Exendin(9-39) erhöhte also die GLP-1-Sekretion, und zwar bei Diabetikern mehr als bei den gesunden Probanden. Für GIP zeigte sich in der vorliegenden Untersuchung kein solcher Unterschied zwischen diabetischen und gesunden Versuchspersonen. Dies bestätigt die Kenntnisse, dass Exendin ein spezifischer Rezeptorantagonist von GLP 1 ist (65). Diese Daten stimmen mit Untersuchungen überein, die unter ähnlichen Bedingungen, allerdings mit einer Exendin(9-39)-Gabe von lediglich 300 pmol/kg/min, ermittelt wurden (17;72). Da die GLP-1-Plasmaspiegel nach intravenöser Verabreichung von GLP-1 durch Exendin(9-39) unbeeinflusst blieben (67), vermutet man weniger eine direkte Wechselwirkung zwischen Exendin(9-39) und dem GLP-1-Metabolismus, sondern vielmehr eine Autofeedbackhemmung der GLP-1-Sekretin durch GLP-1, die durch die Blockade des GLP-1-Rezeptors unterbrochen wird. Die genaueren physiologischen Abläufe sind dabei allerdings noch weitgehend unbekannt (17).

Die gefundenen Ergebnisse zeigen, dass die enterale postprandiale Antwort auch bei T2DM grundsätzlich intakt ist. Da die postprandialen Plasmakonzentration der Inkretinhormone bei Patienten mit T2DM nicht unterschiedlich zu denen von Gesunden sind und sich somit auch die potentielle Wirkung an den Zielorganen nicht von Gesunden unterscheidet, scheint der bei Patienten mit T2DM bekannte reduzierte Inkretineffekt eher an einer gestörten Funktion der β -Zellen selbst zu liegen.

5.2. Die antroduodenale Motilität bei Diabetikern und der Effekt von GLP-1

Die Magenentleerung ist ein Resultante des Zusammenspiels der Motilität des proximalen Magens (Akkommodation und Umverteilung nach distal) und der antro-pyloro-duodenalen Motilität (Zerkleinerung und Bolus-artige Entleerung). Ob sich die postprandiale antroduodenale Motilität bei gut eingestellten Diabetikern im Vergleich zu Gesunden unter gleicher Bedingung unterscheidet, wurde bis jetzt noch nicht untersucht. Gleiche Bedingungen sind v.a. durch eine identische Mahlzeit und gleiche Plasmaglukosekonzentrationen zu erreichen. Eine Mahlzeit und eine Hyperglykämie sind jedoch beide Mediatoren der antroduodenalen Motilität und bewirken, wenn sie getrennt untersucht werden, eine Hemmung sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern. Eine Hyperglykämie bewirkt auch eine

Hemmung der Motilität in der interdigestiven Phase und eine verstärkte Hemmung der Motilität in der postprandialen Phase bei Gesunden oder Diabetikern (77-79). In welchem Ausmaß die Mahlzeit mit oder ohne Hyperglykämie die antroduodenale Motilität hemmt, kann untersucht werden, indem eine Mahlzeit unter Euglykämie- und Hyperglykämiebedingungen verabreicht wird. Ebenfalls kann die alleinige Wirkung der Hyperglykämie auf die Motilität genauer untersucht werden, in dem man die Motilität unter Eu- und Hyperglykämie an getrennten Tagen untersuchen. Diese verschiedenen Kombinationen an Untersuchungsmodalitäten haben wir nicht gemacht, da einerseits 2 weitere Versuche für die Probanden sehr belastend gewesen wären, und andererseits viele Studien diese Unterschiede untersucht haben und die Wirkungen belegt sind. Unser Studiendesign mit dem hyperglykämischen Clamp an allen drei Tagen und einer intraduodenaler Mahlzeit an zwei von drei Tagen adressierte spezifisch die Wirkung der Mahlzeit und von GLP-1 auf die postprandiale Motilität von Diabetikern und Gesunden unter exakt isoglykämischen Bedingungen. Diese Fragestellung wurde bisher nicht untersucht.

Wir konnten erstmals zeigen, dass unter den gleichen Hyperglykämie-Bedingungen in physiologischer postprandialer Größenordnung (180 mg/dl), ein gut eingestellter Diabetiker ohne diabetische Komplikationen keine Unterschiede der antroduodenalen Motilität im Vergleich zu Gesunden aufweist sowohl der interdigestiven als auch der postprandialen Motilität. Die Mahlzeit hat in beiden Gruppen während der Hyperglykämie Motilitätsindex, Kontraktionsfrequenz und Kontraktionsamplituden vom Antrum und Duodenum gehemmt. Ebenso wenig zeigten sich quantitative Unterschiede in der Nüchternmotilität.

Die vorliegende Arbeit fokussierte auf die postprandiale antroduodenale Motilität unter hyperglykämischen Bedingungen, nicht auf Veränderungen während Euglykämie. Die Zeit zwischen dem Beginn der intraduodenalen Mahlzeit und dem hyperglykämischen Clamp war insofern mit 30 min eher zu kurz, um eine Beurteilung wagen zu können. Allerdings zeigten die Diabetiker auch während dieser kurzen euglykämischen Phase keinen Unterschied zu Gesunden in der Antwort der antroduodenalen Motilität auf die perfundierte Mahlzeit. Die Mahlzeit hemmte den Motilitätsindex vom Antrum und Duodenum und die Kontraktionsamplitude vom Antrum in beiden Gruppen.

Die antroduodenale Motilität bei Diabetikern wurde in mehreren Studien untersucht mit unterschiedlichen Ergebnissen. Kawagishi et al zeigten mittels Duplexsonographie eine signifikant verminderte antroduodenale Motilität in Bezug auf Frequenz, Dauer und Koordination der Kontraktionen bei den Diabetikern. (80). Eine gestörte antroduodenale Koordination bei Diabetikern wurde auch mittels Manometrie festgestellt (81). In unserer

Studie haben wir keinen Unterschied in der antroduodenalen Motilität zwischen Gesunden und Diabetikern festgestellt.

Dieser Unterschied liegt mutmaßlich daran, dass die genannten Studien keine vergleichbaren Bedingungen zwischen beiden Gruppen etabliert haben. So wurden oft Patienten mit lang bestehendem Diabetes mellitus mit unkontrollierten Plasmaglycoseexkursionen untersucht. Daher kann die gestörte antroduodenale Motilität eine Folge einer autonomen Neuropathie (81) oder Gastroparese sein (82) oder durch die bestehende Hyperglykämie bedingt sein, die wie schon erwähnt einen negativen Effekt auf die Magenentleerung und die antroduodenale Motilität ausübt (55;80;81). Diese Studien können nicht differenzieren zwischen den Akut-Effekten einer Hyperglykämie und einer Diabetes-spezifischen Pathophysiologie. Eine im Jahr 2014 veröffentlichte Studie von Yi-Chun Chiu und Kollegen beschreibt ebenfalls eine gehemmte antrale Motilität bei Diabetikern im Vergleich zu Gesunden (76). Diese Ergebnisse müssen wie eben erwähnt mit Vorsicht diskutiert werden: Erstens: obwohl die in der Studie eingeschlossenen Diabetiker keine Symptome für eine gastrointestinale Neuropathie hatten, litten die Probanden unter lang bestehendem und schlecht eingestelltem DM Typ 2 (Median DM: 11 J, Median HbA1C: 9,5), was eine asymptomatische autonome Neuropathie nicht ausschließen lässt. Außerdem kann die bei den Diabetikern gehemmte antrale Motilität eine Folge der bei den Diabetikern bestehenden Hyperglykämie mit einer Nüchtern-glucose von 126 mg/dl vs. 82 mg/dl bei den Gesunden und anschließender oraler Gabe von 500 ml einer flüssigen Mahlzeit mit einem Glucoseinhalt von 21,2 g sein. Dieser Unterschied in den initialen Plasmaglukosewerten kann natürlich zu einer Hemmung auf die Magenmotilität in der Diabetikergruppe führen.

In unserer Studie konnten wir keine Unterschiede der antroduodenalen Motilität zwischen Gesunden und Diabetikern feststellen. In unserer Studie waren die eingeschlossenen Diabetiker gut eingestellt mit einem mittleren HbA1c von 6,38 %, und es herrschten die gleichen Bedingungen bezüglich der Hyperglykämie und der perfundierte Mahlzeit zwischen beiden Gruppen. Unsere Ergebnisse sind ähnlich zu denen von Frank und seinen Kollegen, die gleiche antrale Motilität zwischen Gesunden und gut eingestelltem nicht insulinpflichtigen Typ 2 DM beschrieben hatten, wobei eine autonome Neuropathie anamnestisch und mittels humoraler vagaler Überwachung durch vergleichbare PYY- Spiegelbestimmung ausgeschlossen wurde. (83)

Die Magenentleerung ist ein komplexes Zusammenspiel zwischen dem Fundus und proximalen Corpus, die als Magenreservoir dienen, und der distalen antroduodenalen Magenpumpe, wobei die antro-pyloro-duodenale Motilität den wichtigsten Teil für Entleerung des Magens darstellt.

Die Magenentleerung bei Diabetikern wurde in mehreren Studien untersucht mit kontroversen Ergebnissen. Viele Studien fanden eine verzögerte Magenentleerung bei Diabetikern. Diese Studien haben wie oben bereits erwähnt teilweise Diabetiker mit einer Gastroparese oder autonomen Neuropathie untersucht (82), ganz überwiegend aber ohne Berücksichtigung der hemmenden postprandialen Glykämie (55;80;81;84).

Die Studien, die bei Patienten mit neu festgestellten Diabetes mellitus ohne Komplikationen durchgeführt wurden, und unter Berücksichtigung der Plasmaglukose, haben meistens sogar eine beschleunigte Magenentleerung festgestellt (83;85;86). Frank et al. fanden eine beschleunigte Magenentleerung bei Diabetikern nur für flüssige Kost und diese war assoziiert mit erhöhten phasischen Kontraktionen des proximalen Magens; die Antrummotilität war hingegen identisch zu derer gesunder isoglykämischer Kontrollen. (83). Kong und seine Mitarbeiter haben im Gegensatz keinen Unterschied in der Magenentleerung für eine flüssig/fest gemischte (flüssig/fest) Mahlzeit zwischen Gesunden und Diabetikern unter euglykämischen Bedingungen und auch nicht unter Hyperinsulinämie gefunden (87).

Die postprandiale Magenentleerung läuft für nichtkalorische Flüssigkeiten wie z.B. Wasser in einem exponentiellen Muster. Nach kalorischer Kost stellt sich ein lineares Muster des transpylorischen Fluss mit einer Geschwindigkeit von ca. 2 kcal/min (68) ein, das aber auch physiologisch einer interindividuellen Variabilität unterliegt. Dies haben wir in unserer Studie imitiert. Durch einen identischen intestinalen Kalorienfluss in einem physiologischen Bereich haben wir sicher gestellt, dass etwaige physiologische oder pathologische Magenentleerungsmuster keinen Einfluss auf die Absorption von Nährstoffen und damit die Glukoseresorption und die Freisetzung gastrointestinale Hormone haben konnten. Nach Sicherstellung identischer Blutglukosekonzentrationen durch den isoglykämischen hyperglykämischen Clamp konnte durch Blockade des GLP-1-Rezeptors gezielt der Einfluss endogen frei gesetzten GLP-1 auf die Motilität untersucht werden. Störfaktoren wie ein unterschiedlicher intestinaler Nährstofffluss oder unterschiedliche Blutzuckerkonzentrationen waren ausgeschaltet.

Es ist bekannt, dass eine orale oder intraduodenale Gabe von Lipiden, Glucose, flüssiger oder gemischter Mahlzeit zu einer Verzögerung der Magenentleerung führt (17;21;88). Studien haben gezeigt, dass die verzögerte Magenentleerung assoziiert ist mit einer Suppression der

antralen und duodenalen Kontraktionswellen und Stimulation des phasischen und tonischen Drucks des Pylorus. In diesen Studien wurde zum Teil wie bei uns die antroduodenale Motilität manometrisch gemessen und die Nahrung intraduodenal gegeben, sei es als Dextrose (89) oder als Lipidlösung (90). Pilichiewicz et al haben gezeigt, dass die antro-pyloro-duodenale Hemmung durch intraduodenal applizierte Glucoseinfusion dosisabhängig ist (77). Entsprechend wurde auch in unserer Studie die antroduodenale Motilität durch intraduodenale Nährstoffperfusion gehemmt, sowohl bei den Gesunden als auch bei den Patienten mit Typ 2-Diabetes mellitus.

GLP-1 ist ein Darmhormon, das postprandial freigesetzt wird und die Glucosehomöostase reguliert in dem es als Inkretinhormon glucoseabhängig die Insulinsekretion stimuliert, die Glucagonsekretion hemmt und als Enterogastron die Magenentleerung verzögert. Das Konzert dieser Mechanismen verhindert eine schnelle Exkursion der Blutglukosekonzentration.

Die Funktion vom GLP-1 auf die Magenmotilität bei Gesunden wurde durch viele Versuche untersucht. Die subkutane oder intravenöse Gabe von synthetischem GLP-1 führte zu einer Relaxation des proximalen Magens, einer Hemmung der antroduodenalen Motilität und einer Stimulation der Pylorusmotilität, resultierend in einer Verzögerung der Magenentleerung (16;33;91). Durch den spezifischen GLP-1-Rezeptorantagonist Exendin(9-39) konnten Schirra et al erstmals die Wirkung des endogenen GLP-1 auf die Magenmotilität beim gesunden Menschen untersuchen. Sie konnten zeigen, dass die antroduodenale Motilität unter tonischer Hemmung von GLP-1 in der interdigestiven Phase steht, dass GLP-1 postprandial die Antrummotilität hemmt, die tonische und phasische Motilität des Pylorus stimuliert und zum Teil die postprandiale Akkommodation des proximalen Magens vermittelt (17;53).

In unserer Studie reduzierte Exendin(9-39) die hemmende Wirkung der Nahrung auf die antroduodenale Motilität in beiden Gruppen signifikant im Vergleich zur Kochsalz-Kontrolle und zwar über den Motilitätsindex und die Kontraktionsfrequenz im Antrum und Duodenum und im Duodenum zusätzlich über der Kontraktionsamplitude. Diese Wirkung war reversibel nach Beendigung der Exendin(9-39)-Infusion. Dies bedeutet, dass postprandial endogen freigesetztes GLP-1 als Mediator sowohl bei Gesunden als auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 die postprandiale antroduodenale Motilität inhibitorisch reguliert.

Erstaunlicherweise hatte intravenöses Exendin(9-39) in zwei Studien von Salehi et al und von Nicolaus et al. keine Wirkung auf die Magenentleerung oder die gastroduodenale Motilität nach einer oralen Mahlzeit (72;92), steigerte jedoch die postprandiale Hyperglykämie und die Glukagonplasmaspiegel (92). In einer anderen Studie von Deane et al. beschleunigte der GLP-1-Rezeptorantagonist hingegen die Magenentleerung (93). In dieser letzteren Studie wurde sogar eine niedrigere Dosis Exendin(9-39) eingesetzt (300 pmol/kg/min), die nur etwa 80% der insulinotropen GLP-1-Wirkung hemmt (65). Da die insulinotrope Wirkung die deutlich stärkste Wirkung von GLP-1 darstellt, gilt sie in vivo als Parameter für die inhibitorischen Qualitäten eines GLP-1-Rezeptorantagonisten. In der von uns, von Salehi et al. und von Nicolaus et al. eingesetzten Dosis von 600 pmol/kg/min hemmte Exendin(9-39) mehr als 95% der insulinotropen Wirkung von synthetischem GLP-1 (66). Es ist deshalb nicht davon auszugehen, dass die uneinheitliche Wirkung auf die Magenentleerung eine Dosis-Frage des Antagonisten ist. Vielmehr scheint die Wirkung auf die Motilität redundant im Konzert aller Mechanismen zu sein, die die Magenentleerung hemmend regulieren. Hierzu gehören neben dem intestinalen hormonalen Feedback insbesondere auch neuronale inhibitorische Reflexe, die durch die orale Nahrungsaufnahme getriggert werden, so z.B. die Distension des proximalen Magens. Es ist weiterhin denkbar, dass konventionellen Messtechniken der Magenentleerung - Atemtest oder Szintigraphie - eine initial sehr frühpostprandiale beschleunigte Magenentleerung entgeht, die dann ihrerseits eine stärkere Hemmung der weiteren Magenentleerung induziert. So gibt es außer GLP-1 noch andere postprandiale intestinale Hormone, die die Magenentleerung hemmen (CCK, PYY). Auch existiert ein direkter inhibitorischer duodeno-gastraler vagaler Reflexbogen innerhalb des enterischen Nervensystems, der die Pylorusmotilität stimuliert (94). Hoch wahrscheinlich ist aber, dass die in diesen Studien mit einer oralen Testmahlzeit unter Exendin(9-39) induzierte Hyperglykämie durch eine hemmende Wirkung auf die Magenentleerung eine potentielle Beschleunigung durch den Antagonisten maskiert hat. Diese Experimente zeigen, dass die postprandiale Hemmung der Magenentleerung einen hohen physiologischen Stellenwert hat und entsprechend durch unterschiedliche neurohumorale Mechanismen redundant geschützt ist. Es unterstreicht auch die Notwendigkeit einer sehr sorgfältigen Versuchsplanung, um die Rolle einzelner Mechanismen möglichst isoliert untersuchen zu können.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bei den Gesunden stimmen mit den bereits erwähnten Ergebnissen von Schirra et al in einer Studie im Jahr 2006 überein (17); damals erfolgte eine intraduodenale Glucoseperfusion aber ohne hyperglykämischen Clamp. Eine akute Hyperglykämie hemmt die Magenentleerung und die antroduodenale Motilität. Diese Hyperglykämie kann aber nicht für den hier beschriebenen Effekt von Exendin(9-39)

verantwortlich sein, da sie an allen Versuchstagen gleichermaßen vorhanden war und Exendin(9-39) trotzdem zu einer Änderung der postprandialen Motilität geführt hat. Die signifikante Stimulation der antroduodenalen Motilität durch Exendin(9-39) spricht für die hemmende Wirkung von endogenem GLP-1 auf die antroduodenale Motilität. Dies korreliert mit den Studienergebnissen, die sowohl mit synthetischem GLP-1 durchgeführt wurde (16) als auch die Studien, die das endogene GLP-1 untersucht haben (17;53). Die vorliegende Studie ist nun die erste, die gezeigt hat, dass die endogene Wirkung von GLP-1 auf die antroduodenale Motilität genauso bei Diabetikern vorhanden ist wie bei den Gesunden.

Diese Ergebnisse korrelieren auch sehr gut mit einer neulich veröffentlichten randomisierten Studie mit der Verwendung des GLP-1-Rezeptoragonisten Exendin(4-34). Dort wurde gezeigt, dass die duodenale Motilität bei Diabetikern wie bei Gesunden nach intraduodenaler Glucoseperfusion durch die Gabe von Exenatide als GLP-1 Agonist gehemmt wird (95).

Differentielle Effekte auf einzelnen Qualitäten der Motilität - Kontraktionsfrequenz, Kontraktionsamplitude, Motilitätsindex - sind in den verschiedenen Studien durchaus uneinheitlich. In den 30 Minuten vor Beginn des hyperglykämischen Clamps und ab dem Beginn der duodenalen Mahlzeitperfusion hat in unserer Studie Exendin(9-39) signifikant nur die Kontraktionsamplitude vom Antrum erhöht und zeigt eine tendenzielle aber nicht signifikante Erhöhung des Motilitätsindex vom Antrum und Duodenum. Auf die antroduodenale Kontraktionsfrequenz hat Exendin(9-39) keine Wirkung gezeigt. Erwartungsgemäß soll das endogene GLP-1 auch unter euglykämischen Bedingungen die postprandiale antroduodenale Motilität hemmen (17). Dieser Unterschied liegt wahrscheinlich an der kurzen Messungsphase von 30 Minuten bei uns. Der Sekretionspeak der postprandialen GLP-1 liegt 30 Minuten postprandial und in dieser Zeit wurde in unserem Versuch mit dem Clamp begonnen.

Im Gegensatz dazu hatten Schirra et al. in ihrer Studie über die endogene Wirkung vom GLP-1 (17) keinen Effekt von Exendin 9-39 auf die Amplitude vom Antrum und Duodenum durch eine intraduodenale Glucoseperfusion gezeigt. In unserer Studie hat Exendin(9-39) die postprandiale Amplitude im Antrum vor Beginn des Clamps erhöht und im Duodenum während des hyperglykämischen Clamps. Wenn synthetisches GLP-1 infundiert wird, kommt es aber zur Hemmung aller Qualitäten der antroduodenalen Motilität (MI, KF, KA) (16). Diese Unterschiede in dem Effekt von Exendin(9-39) liegen wahrscheinlich an der komplexen

Regulation der antropyloroduodenalen Motilität und der neurohumeralen Feedbackmechanismen, die noch nicht ganz geklärt sind. Pilichiewicz et al zeigten, dass eine intraduodenale Glucoseperfusion dosisunabhängig die antrale Motilität hemmt und die duodenale erst ab einer Dosis von 4 kcal/min (77). Kuo et al stellten fest, dass eine physiologische akute Hyperglykämie im Vergleich zur Euglykämie (9 v.s 5 mmol/l in deren Versuch) keine Wirkung auf die duodenale Motilität (Kontraktionsfrequenz und Amplitude) zeigt. (10). Im Gegensatz hemmt eine vergleichbare Hyperglykämie die antrale Motilität (96). In unserer Studie wurde eine duodenale Glucose/Lipid gemischte Mahlzeit perfundiert mit einer Geschwindigkeit von 2,03 kcal/min, der Glucoseanteil daran ist 0,37 kcal/min. Außerdem ist das in der Studie verwendete Hyperglykämieziel auf 180 mg/dl (10 mmol/l) noch im physiologischen Bereich.

In Anbetracht dieser Informationen kann man vermuten, dass die hemmende Wirkung der Nahrung und der Hyperglykämie auf die antrale Kontraktionsamplitude die stimulierende Wirkung durch Exendin(9-39) überwogen hat. Bei wahrscheinlich geringem Effekt der Hyperglykämie aufs Duodenum konnte Exendin(9-39) noch einen Effekt zeigen. Synthetische GLP-1-Gabe führt aber zu einer additiven Hemmung zu der Hemmung durch Nahrung oder ggf. vorhandener Hyperglykämie. Daher sind die Studienergebnisse durch synthetisch infundiertes oder endogenes GLP-1 auf die Motilität nicht immer vergleichbar.

Wie genau GLP-1 die antroduodenale Motilität moduliert, ist noch nicht ganz geklärt. Schirra et al haben festgestellt, dass die hemmende GLP-1 Wirkung auf den proximalen Magen zum Teil durch Hemmung vagal-cholinerger-Nerven vermittelt wird.(53) Im Gegensatz war die Stimulation der postprandialen antroduodenalen Motilität unter Exendin(9-39) durch Atropin nicht beeinflussbar, was eine neurale parasymptomatisch vermittelte Wirkung von GLP-1 auf den antroduodenalen Motorkomplex unwahrscheinlich macht (53). Letztendlich bleiben noch viele Fragen offen über die Wirkung dieses Darmhormons, die durch weitere Forschung geklärt werden sollten. Vor allem durch die Tatsache, dass die Substanzgruppe der GLP-1 Analoga oder DPP-4 Hemmer in der Diabetestherapie sich etabliert haben. In dieser Studie konnten wir aber zeigen, dass das endogene GLP-1 als Enterogastron die antroduodenale Motilität sowohl bei Gesunden als auch bei Diabetikern identisch moduliert, was für die Glucosehomöostase und Therapie bei Diabetikern von enormer Bedeutung sein kann.

6. Zusammenfassung

Die Darmhormone Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) und Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) steigern als Inkretinhormone glukoseabhängig die Insulinsekretion. GLP-1 hemmt darüber hinaus die Glukagonsekretion und als Enterogastron die gastroduodenale Motilität. Dadurch regulierten beide Hormone die Glukosehomöostase. GLP-1- und GIP-basierte Therapien gehören heute zum Standard der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2, sei es in Form von GLP-1-Rezeptor-Agonisten oder der DPP-4-Hemmer. Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ist die Funktion des endogenen GLP-1 weitgehend unklar. Weiterhin zeigen diese Patienten häufig eine gestörte Magenentleerung, wobei sowohl die Ursache als auch die klinische Relevanz derzeit kontrovers ist. Die Magenentleerung unterliegt einem streng hemmenden Einfluss sowohl der postprandialen Hyperglykämie als auch des intestinalen Nährstofffluss.

Ziel dieser Studie ist, die antroduodenale Motilität bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM) unter hinsichtlich begleitender Glykämie und intestinalem Nährstofffluss identischen Bedingungen zu vergleichen. Darüber hinaus soll in beiden Gruppen die Rolle des endogenen GLP-1 als Regulator der antroduodenalen Motilität unter Verwendung des spezifischen GLP-1-Rezeptorantagonisten Exendin(9-39) untersucht werden.

Zwölf gesunde Probanden und 12 Patienten mit gut eingestelltem T2DM (mittlerer HbA1c 6.38%) nahmen an je an drei Versuchstagen der Placebo-kontrollierten, prospektiven, randomisierten cross-over-Studie teil. An allen Versuchstagen wurde die Blutglukosekonzentration für die Dauer von 180 Minuten durch eine variable intravenöse Glucoseinfusion auf einem hyperglykämischen Niveau von 180 mg/dl gehalten, um isoglykämische Bedingungen zwischen den beiden Gruppen zu schaffen (hyperglykämischer Clamp). An zwei Experimenttagen wurde über eine Duodenalsonde eine flüssige Mahlzeit (Glukose + Fett) mit konstanter Geschwindigkeit intraduodenal perfundiert (2.03 kcal/min). Diese duodenale Nährstoffperfusion startete nach einer 30-minütigen Nüchternperiode und 30 Minuten vor dem Start des hyperglykämischen Clamp. Sie entspricht der mittleren Magenentleerungsgeschwindigkeit gesunder Menschen und stellt einen identischen intestinalen Nährstofffluss bei den Gesunden und den Patienten mit T2DM sicher. Sie gewährleistet zum einen einen identischen Sekretionsstimulus für die intestinalen Hormone, zum anderen gleiche Bedingungen für die antroduodenale Motilität. An einem dieser beiden postprandialen Tage erfolgte zusätzlich die intravenöse Infusion mit dem spezifischen GLP-1 Rezeptorantagonist Exendin(9-39) mit 600 pmol/kg/min, um den Effekt des endogen freigesetzten GLP-1 auf die

postprandiale antroduodenale Motilität zu untersuchen. Die Dosis Exendin(9-39) von 600 pmol/kg/min antagonisiert >95% des endogenen GLP-1. Die Infusion mit Exendin(9-39) wurde 60 Minuten vor Ende der Experimente gestoppt. Ein dritter Tag mit intraduodenaler und intravenöser Infusion einer Kochsalzlösung diente als isoglykämische Nüchternkontrolle.

Die Messung der antroduodenalen Motilität erfolgte perfusionsmanometrisch durch eine dünne 12-Kanal-Duodenalsonde. Folgende Motilitätsparameter wurden für Antrum und Duodenum bestimmt: Kontraktionsamplitude, Kontraktionsfrequenz und Motilitätsindex. In regelmässigen Abständen erfolgten Blutentnahmen zur Bestimmung der Plasmakonzentration von GLP-1 und GIP. Die Statistik erfolgte mit einer zweifaktoriellen ANOVA mit Infusion/Perfusion bzw. Diabetesstatus als unabhängigen Faktoren.

Die duodenale Mahlzeitperfusion führte zu signifikanten und stabilen Steigerungen der Plasmakonzentration von GLP-1 und GIP bei Gesunden und Patienten mit T2DM ohne Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Die duodenale Mahlzeit hemmte sowohl bei den Gesunden als auch bei den Diabetikern signifikant die antrale und duodenale Motilität verglichen mit dem nüchternen Kontrollexperiment. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen Gesunden und Diabetikern. In der kurzen Phase der Euglykämie hemmte die Mahlzeit den Motilitätsindex von Antrum und Duodenum und die Kontraktionsamplitude vom Antrum in beiden Gruppen ebenfalls signifikant ohne Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Somit konnten wir zeigen, dass unter isoglykämischen Bedingungen ein gut eingestellter Diabetiker ohne diabetische Komplikationen keinen Unterschied der antroduodenalen Motilität im Vergleich zu Gesunden zeigt.

Exendin(9-39) reduzierte signifikant die hemmende Wirkung der Nahrung auf die antroduodenale Motilität in beiden Gruppen während des hyperglykämischen Clamp. Diese hemmende Wirkung betraf Motilitätsindex und Kontraktionsfrequenz von Antrum und Duodenum und im Duodenum zusätzlich die Kontraktionsamplitude. Dieser Unterschied verschwand nach Beendigung der Exendin(9-39)-Infusion. Die Hemmung der antroduodenalen Motilität durch intestinale Nährstoffe ist somit signifikant vermittelt durch endogen freigesetztes GLP-1. Diese inhibierende Rolle ist bei Patienten mit gut eingestelltem T2DM unverändert erhalten.

Zusammengefasst besteht bei gut eingestelltem Diabetes mellitus Typ 2 ohne Neuropathie kein Unterschied der antroduodenalen Motilität zu der Gesunder. GLP-1 moduliert als Enterogastron hemmend die antroduodenale Motilität bei Diabetiker genau wie bei Gesunden. Dies ist von Bedeutung für die Glukosehämöostase und die Diabetestherapie mit GLP-1-Analoga und DPP-4-Inhibitoren.

7. Literaturverzeichnis

Reference List

- (1) bdul-Ghani MA, Tripathy D, DeFronzo RA. Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Diabetes Care* 2006;**29**(5):1130-9.
- (2) Basu A, Basu R, Shah P *et al.* Type 2 diabetes impairs splanchnic uptake of glucose but does not alter intestinal glucose absorption during enteral glucose feeding: additional evidence for a defect in hepatic glucokinase activity. *Diabetes* 2001;**50**(6):1351-62.
- (3) Woerle HJ, Meyer C, Dostou JM *et al.* Pathways for glucose disposal after meal ingestion in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;**284**(4):E716-E725.
- (4) Woerle HJ, Szoke E, Meyer C *et al.* Mechanisms for abnormal postprandial glucose metabolism in type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;**290**(1):E67-E77.
- (5) Woerle HJ, Albrecht M, Linke R *et al.* Importance of changes in gastric emptying for postprandial plasma glucose fluxes in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;**294**(1):E103-E109.
- (6) Horowitz M, Edelbroek MA, Wishart JM *et al.* Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy subjects. *Diabetologia* 1993;**36**(9):857-62.
- (7) Horowitz M, O'Donovan D, Jones KL *et al.* Gastric emptying in diabetes: clinical significance and treatment. *Diabet Med* 2002;**19**(3):177-94.
- (8) Creutzfeldt W. The incretin concept today. *Diabetologia* 1979;**16**(2):75-85.
- (9) Nathan DM, Schreiber E, Fogel H *et al.* Insulinotropic action of glucagonlike peptide-I-(7-37) in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 1992;**15**(2):270-6.
- (10) Kuo P, Wishart JM, Bellon M *et al.* Effects of physiological hyperglycemia on duodenal motility and flow events, glucose absorption, and incretin secretion in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;**95**(8):3893-900.
- (11) Woerle HJ, Albrecht M, Linke R *et al.* Impaired hyperglycemia-induced delay in gastric emptying in patients with type 1 diabetes deficient for islet amyloid polypeptide. *Diabetes Care* 2008;**31**(12):2325-31.
- (12) Nauck M, Stockmann F, Ebert R *et al.* Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986;**29**(1):46-52.
- (13) Nauck MA, Baller B, Meier JJ. Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes* 2004;**53 Suppl 3**:S190-S196.
- (14) Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C *et al.* Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993;**91**(1):301-7.
- (15) Nauck MA, Heimesaat MM, Behle K *et al.* Effects of glucagon-like peptide 1 on counterregulatory hormone responses, cognitive functions, and insulin secretion during

hyperinsulinemic, stepped hypoglycemic clamp experiments in healthy volunteers. 5. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;**87**(3):1239-46.

- (16) Schirra J, Houck P, Wank U *et al.* Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on antro-pyloro-duodenal motility in the interdigestive state and with duodenal lipid perfusion in humans. *Gut* 2000;**46**(5):622-31.
- (17) Schirra J, Nicolaus M, Roggel R *et al.* Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. *Gut* 2006;**55**(2):243-51.
- (18) Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S *et al.* Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;**86**(8):3717-23.
- (19) Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF *et al.* Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001;**50**(3):609-13.
- (20) Woerle HJ, Carneiro L, Derani A *et al.* The role of endogenous incretin secretion as amplifier of glucose-stimulated insulin secretion in healthy subjects and patients with type 2 diabetes. 3. *Diabetes* 2012;**61**(9):2349-58.
- (21) Houghton LA, Read NW, Heddle R *et al.* Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal. *Gastroenterology* 1988;**94**(6):1285-91.
- (22) Schirra J, Katschinski M, Weidmann C *et al.* Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest* 1996;**97**(1):92-103.
- (23) Edholm T, Degerblad M, Gryback P *et al.* Differential incretin effects of GIP and GLP-1 on gastric emptying, appetite, and insulin-glucose homeostasis. *Neurogastroenterol Motil* 2010;**22**(11):1191-200, e315.
- (24) Eissele R, Goke R, Willemer S *et al.* Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur J Clin Invest* 1992;**22**(4):283-91.
- (25) Mortensen K, Petersen LL, Orskov C. Colocalization of GLP-1 and GIP in human and porcine intestine. 2. *Ann N Y Acad Sci* 2000;**921**:469-72.
- (26) Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ *et al.* GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. 6. *Regul Pept* 2003;**114**(2-3):189-96.
- (27) Herrmann C, Goke R, Richter G *et al.* Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. 11. *Digestion* 1995;**56**(2):117-26.
- (28) Hansen L, Deacon CF, Orskov C *et al.* Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. 8. *Endocrinology* 1999;**140**(11):5356-63.
- (29) Hupe-Sodmann K, McGregor GP, Bridenbaugh R *et al.* Characterisation of the processing by human neutral endopeptidase 24.11 of GLP-1(7-36) amide and comparison of the substrate specificity of the enzyme for other glucagon-like peptides. *Regul Pept* 1995;**58**(3):149-56.

- (30) Nauck MA, Busing M, Orskov C *et al.* Basal and nutrient-stimulated pancreatic and gastrointestinal hormone concentrations in type-1-diabetic patients after successful combined pancreas and kidney transplantation. *Clin Invest* 1992;**70**(1):40-8.
- (31) Schirra J, Wank U, Arnold R *et al.* GLP-1(7-36)amide (GLP-1) is a physiological regulator of human antro-pyloro-duodenal motility. *Gastroenterology* 2000;**118** (abstract).
- (32) Schirra J, Craney C, Nicolaus M *et al.* Endogenous GLP-1(7-36)amide (GLP-1) reduces proximal gastric perception in human. *Gastroenterology* 2001;**120** (abstract).
- (33) Schirra J, Wank U, Arnold R *et al.* Effects of glucagon-like peptide-1(7-36)amide on motility and sensation of the proximal stomach in humans. *Gut* 2002;**50**(3):341-8.
- (34) Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE *et al.* Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig Dis Sci* 1993;**38**(4):665-73.
- (35) Flint A, Raben A, Astrup A *et al.* Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest* 1998;**101**(3):515-20.
- (36) Turton MD, O'Shea D, Gunn I *et al.* A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 1996;**379**(6560):69-72.
- (37) Gutzwiller JP, Goke B, Drewe J *et al.* Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut* 1999;**44**(1):81-6.
- (38) Willms B, Werner J, Holst JJ *et al.* Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7-36) amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;**81**(1):327-32.
- (39) Gutzwiller JP, Drewe J, Goke B *et al.* Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *Am J Physiol* 1999;**276**(5 Pt 2):R1541-R1544.
- (40) Hui H, Wright C, Perfetti R. Glucagon-like peptide 1 induces differentiation of islet duodenal homeobox-1-positive pancreatic ductal cells into insulin-secreting cells. *Diabetes* 2001;**50**(4):785-96.
- (41) Naslund E, Bogefors J, Skogar S *et al.* GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1999;**277**(3):R910-R916.
- (42) Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R *et al.* Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol* 1997;**273**(5 Pt 1):E981-E988.
- (43) Edwards CM, Todd JF, Mahmoudi M *et al.* Glucagon-like peptide 1 has a physiological role in the control of postprandial glucose in humans: studies with the antagonist exendin 9-39. *Diabetes* 1999;**48**(1):86-93.
- (44) Nauck MA. Is glucagon-like peptide 1 an incretin hormone? *Diabetologia* 1999;**42**(3):373-9.
- (45) Bertin E, Schneider N, Abdelli N *et al.* Gastric emptying is accelerated in obese type 2 diabetic patients without autonomic neuropathy. 2. *Diabetes Metab* 2001;**27**(3):357-64.

- (46) Meier JJ, Nauck MA. Is the diminished incretin effect in type 2 diabetes just an epi-phenomenon of impaired beta-cell function? *Diabetes* 2010;**59**(5):1117-25.
- (47) Nauck MA, Kleine N, Orskov C *et al.* Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993;**36**(8):741-4.
- (48) Dupre J, Behme MT, McDonald TJ. Exendin-4 Normalized Postcibal Glycemic Excursions in Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;**89**(7):3469-73.
- (49) Edwards CM, Stanley SA, Davis R *et al.* Exendin-4 reduces fasting and postprandial glucose and decreases energy intake in healthy volunteers. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;**281**(1):E155-E161.
- (50) Göke R, Fehmann HC, Linn T *et al.* Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting beta-cells. *J Biol Chem* 1993;**268**(26):19650-5.
- (51) Herman GA, Bergman A, Stevens C *et al.* Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;**91**(11):4612-9.
- (52) Schirra J, Nicolaus M, Craney C *et al.* Regulation of antro-pyloro-duodenal and proximal gastric motility by GLP-1(7-36)amide (GLP-1): Involvement of cholinergic pathways. *Gastroenterology* 2001;**120** (abstract).
- (53) Schirra J, Nicolaus M, Woerle HJ *et al.* GLP-1 regulates gastroduodenal motility involving cholinergic pathways. *Neurogastroenterol Motil* 2009.
- (54) Kong MF, Macdonald IA, Tattersall RB. Gastric emptying in diabetes. *Diabet Med* 1996;**13**(2):112-9.
- (55) Samsom M, Bharucha A, Gerich JE *et al.* Diabetes mellitus and gastric emptying: questions and issues in clinical practice. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;**25**(6):502-14.
- (56) Keshavarzian A, Iber FL, Vaeth J. Gastric emptying in patients with insulin-requiring diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 1987;**82**(1):29-35.
- (57) Schwartz JG, Green GM, Guan D *et al.* Rapid gastric emptying of a solid pancake meal in type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1996;**19**(5):468-71.
- (58) Imeryuz N, Yegen BC, Bozkurt A *et al.* Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol* 1997;**273**(4 Pt 1):G920-G927.
- (59) Linnebjerg H, Park S, Kothare PA *et al.* Effect of exenatide on gastric emptying and relationship to postprandial glycemia in type 2 diabetes. *Regul Pept* 2008;**151**(1-3):123-9.
- (60) Drucker DJ, Buse JB, Taylor K *et al.* Exenatide once weekly versus twice daily for the treatment of type 2 diabetes: a randomised, open-label, non-inferiority study. *Lancet* 2008;**372**(9645):1240-50.
- (61) Juhl CB, Hollingdal M, Sturis J *et al.* Bedtime administration of NN2211, a long-acting GLP-1 derivative, substantially reduces fasting and postprandial glycemia in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;**51**(2):424-9.

- (62) Vella A, Bock G, Giesler PD *et al.* Effects of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibition on Gastrointestinal Function, Meal Appearance and Glucose Metabolism in Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2007;db07-0136.
- (63) Aulinger BA, Bedorf A, Kutscherauer G *et al.* Defining the role of GLP-1 in the enteroinsular axis in type 2 diabetes using DPP-4 inhibition and GLP-1 receptor blockade. *Diabetes* 2014;**63**(3):1079-92.
- (64) Kolligs F, Fehmann HC, Goke R *et al.* Reduction of the incretin effect in rats by the glucagon-like peptide 1 receptor antagonist exendin (9-39) amide. *Diabetes* 1995;**44**(1):16-9.
- (65) Schirra J, Sturm K, Leicht P *et al.* Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans. *J Clin Invest* 1998;**101**(7):1421-30.
- (66) Schirra J, Goke B. GLP-1--a candidate humoral mediator for glucose control after Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetes* 2014;**63**(2):387-9.
- (67) Schirra J, Roggel R, Leicht P *et al.* Endogenous GLP-1(7-36)amide controls endocrine pancreatic secretion and antroduodenal motility in human. *Gastroenterology* 1998;**114** (abstract):A1178.
- (68) Horowitz M, Dent J, Fraser R *et al.* Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. *Dig Dis Sci* 1994;**39**(12 Suppl):7S-13S.
- (69) DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;**237**(3):E214-E223.
- (70) Vollmer K, Gardiwal H, Menge BA *et al.* Hyperglycemia acutely lowers the postprandial excursions of glucagon-like Peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;**94**(4):1379-85.
- (71) Ebert R, Creutzfeldt W. Gastrointestinal peptides and insulin secretion. *Diabetes Metab Rev* 1987;**3**(1):1-26.
- (72) Salehi M, Prigeon RL, Aulinger B *et al.* Effect of endogenous GLP-1 on insulin secretion in type 2 diabetes. *Diabetes* 2010.
- (73) Vollmer K, Holst JJ, Baller B *et al.* Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008;**57**(3):678-87.
- (74) Muscelli E, Mari A, Casolaro A *et al.* Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in normal subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2008;**57**(5):1340-8.
- (75) Meier JJ, Nauck MA. Is secretion of glucagon-like peptide-1 reduced in type 2 diabetes mellitus? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;**4**(11):606-7.
- (76) Chiu YC, Kuo MC, Rayner CK *et al.* Decreased gastric motility in type II diabetic patients. *Biomed Res Int* 2014;**2014**:894087.
- (77) Pilichiewicz AN, Chaikomin R, Brennan IM *et al.* Load-dependent effects of duodenal glucose on glycemia, gastrointestinal hormones, antropyloroduodenal motility, and energy intake in healthy men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;**293**(3):E743-E753.
- (78) Rayner CK, Samsom M, Jones KL *et al.* Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycaemic control. 2. *Diabetes Care* 2001;**24**(2):371-81.

- (79) Samsom M, Akkermans LM, Jebbink RJ *et al.* Gastrointestinal motor mechanisms in hyperglycaemia induced delayed gastric emptying in type I diabetes mellitus. *Gut* 1997;**40**(5):641-6.
- (80) Kawagishi T, Nishizawa Y, Okuno Y *et al.* Antroduodenal motility and transpyloric fluid movement in patients with diabetes studied using duplex sonography. *Gastroenterology* 1994;**107**(2):403-9.
- (81) Wehrmann T, Lembcke B, Caspary WF. Influence of cisapride on antroduodenal motor function in healthy subjects and diabetics with autonomic neuropathy. *Aliment Pharmacol Ther* 1991;**5**(6):599-608.
- (82) Camilleri M, Malagelada JR. Abnormal intestinal motility in diabetics with the gastroparesis syndrome. *Eur J Clin Invest* 1984;**14**(6):420-7.
- (83) Frank JW, Saslow SB, Camilleri M *et al.* Mechanism of accelerated gastric emptying of liquids and hyperglycemia in patients with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology* 1995;**109**(3):755-65.
- (84) Chiu YC, Kuo MC, Rayner CK *et al.* Decreased gastric motility in type II diabetic patients. *Biomed Res Int* 2014;**2014**:894087.
- (85) Phillips WT, Schwartz JG, McMahan CA. Rapid gastric emptying in patients with early non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1991;**324**(2):130-1.
- (86) Phillips WT, Schwartz JG, McMahan CA. Rapid gastric emptying of an oral glucose solution in type 2 diabetic patients. *J Nucl Med* 1992;**33**(8):1496-500.
- (87) Kong MF, King P, Macdonald IA *et al.* Euglycaemic hyperinsulinaemia does not affect gastric emptying in type I and type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999;**42**(3):365-72.
- (88) Houghton LA, Read NW, Heddle R *et al.* Motor activity of the gastric antrum, pylorus, and duodenum under fasted conditions and after a liquid meal. *Gastroenterology* 1988;**94**(6):1276-84.
- (89) Edelbroek M, Horowitz M, Fraser R *et al.* Adaptive changes in the pyloric motor response to intraduodenal dextrose in normal subjects. *Gastroenterology* 1992;**103**(6):1754-61.
- (90) Heddle R, Dent J, Read NW *et al.* Antropyloroduodenal motor responses to intraduodenal lipid infusion in healthy volunteers. *Am J Physiol* 1988;**254**(5 Pt 1):G671-G679.
- (91) Anvari M, Paterson CA, Daniel EE *et al.* Effects of GLP-1 on gastric emptying, antropyloric motility, and transpyloric flow in response to a nonnutrient liquid. *Dig Dis Sci* 1998;**43**(6):1133-40.
- (92) Nicolaus M, Brodl J, Linke R *et al.* Endogenous GLP-1 regulates postprandial glycemia in humans: relative contributions of insulin, glucagon, and gastric emptying. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;**96**(1):229-36.
- (93) Deane AM, nguyen nq, Stevens JE *et al.* Endogenous glucagon-like peptide-1 slows gastric emptying in healthy subjects, attenuating postprandial glycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;**95**(1):215-21.
- (94) Allescher HD, Daniel EE, Dent J *et al.* Extrinsic and intrinsic neural control of pyloric sphincter pressure in the dog. *J Physiol* 1988;**401**:17-38.

- (95) Thazhath SS, Marathe CS, Wu T *et al.* The Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonist Exenatide Inhibits Small Intestinal Motility, Flow, Transit, and Absorption of Glucose in Healthy Subjects and Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes* 2016;**65**(1):269-75.
- (96) Hasler WL, Soudah HC, Dulai G *et al.* Mediation of hyperglycemia-evoked gastric slow-wave dysrhythmias by endogenous prostaglandins. *Gastroenterology* 1995;**108**(3):727-36.

Eidesstattliche Versicherung

DERANI, AYMAN

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**REGULATION DER ANTRoduODENALEN MOTILITÄT DURCH GLP-1 BEI
GESUNDEN UND PATIENTEN MIT DIABETES MELLITUS TYP 2 (T2DM)**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

MÜNCHEN 25.11.2018

Ort, Datum

AYMAN DERANI

Unterschrift Doktorandin/Doktorand